



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias

**Bacterias potencialmente patógenas de los géneros  
*Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia* en artrópodos vectores  
asociados a poblaciones de *Rattus rattus* en Chile**

Tesis para optar al grado de Doctora en Ciencias Veterinarias

ELAINE MONALIZE SERAFIM DE CASTRO  
CHILLÁN-CHILE  
2024

Profesora Guía: Lucila Moreno Salas  
Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Universidad de Concepción  
Profesora Co-guía: Ananda Müller

Esta tesis ha sido realizada en el Departamento de Ciencia Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.

Profesor Guía

---

Dra. Lucila del Carmen Moreno Salas  
Facultad de Ciencias Naturales y  
Oceanográficas  
Universidad de Concepción

Profesor Co-Guía:

---

Dra. Ananda Müller  
Ross University

Comisión Evaluadora:

---

Dr. Sebastian Muñoz Leal  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad de Concepción

---

Dr. Carlos Landaeta  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad de Concepción

---

Dra. Juana Paola Correa  
Facultad de Ciencias de la Naturaleza  
Universidad San Sebastián

Director de Programa

---

Dr. Fidel Castro Reboredo  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad de Concepción

## AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profunda gratitud a todas las personas que contribuyeron directa o indirectamente para culminar este proceso, brindándome su apoyo desde perspectivas académicas, científicas o personales.

Me gustaría comenzar primeramente expresando un profundo agradecimiento a mi orientadora, la Dra. Lucila Moreno, cariñosamente conocida como "Tuti". Su presencia fue esencial en cada etapa de este proceso. Muchas gracias por toda tu empatía. Eres Increíble.

A profesora co-guía Dra. Ananda Müller, por su amabilidad, calidad humana, por su ayuda, por abrirme las puertas del laboratorio, comprensión, confianza y la formación científica y académica prestada.

A mi familia, que siempre ha estado a mi lado brindándome apoyo emocional y comprensión durante los desafíos que enfrenté. Su amor y aliento fueron fuentes constantes de inspiración.

A mis colegas de investigación y amigos chilenos que apreciaré por siempre, quisiera agradecerles por su colaboración, apoyo emocional y ambiente enriquecedor que hemos compartido a lo largo de estos años.

Por fin, dedico este trabajo a comunidad que tanto me inspira. Que este estudio puede contribuir de alguna forma para el avance del conocimiento y lo que sabe para ser estrella de la sociedad.

Muchas gracias a todos los que fueron parte de este viaje, sola nunca sería posible.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	Viii
ABSTRACT.....	X
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
<b>CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
1. <b>Introducción.....</b>	<b>3</b>
2. <b>Metodología de la revisión bibliográfica .....</b>	<b>5</b>
3. <b>Dessarollo.....</b>	<b>6</b>
<b>3.1 Historia de vida de los roedores sinantrópicos .....</b>	<b>6</b>
3.1.1 <b>Origen y distribución de <i>R. norvegicus</i>, <i>Rattus rattus</i> y <i>M. musculus</i> .....</b>	<b>6</b>
3.1.2 <b>Aspectos biológicos y morfológicos.....</b>	<b>8</b>
3.1.3 <b>Conducta alimentaria.....</b>	<b>13</b>
3.1.4 <b>Hábitos y Comportamientos social .....</b>	<b>14</b>
3.1.5 <b>Interacciones sociales .....</b>	<b>15</b>
4. <b>Fuentes ambientales que afectan a las poblaciones de ratas: clima y estación .....</b>	<b>16</b>
5. <b>Entorno urbano y rural asociado con la presencia de roedores y enfermedades .....</b>	<b>17</b>
6. <b>Principales enfermedades zoonóticas .....</b>	<b>18</b>
7. <b><i>Bartonella</i>, <i>Coxiella burnetii</i> y <i>Rickettsia</i> a nivel mundial .....</b>	<b>21</b>
7.1. <b><i>Bartonella</i> .....</b>	<b>21</b>
7.2. <b><i>Coxiella burnetii</i> .....</b>	<b>24</b>
7.3. <b><i>Rickettsia</i>.....</b>	<b>26</b>
8. <b>Roedores como hospedadores de ectoparásitos vectores de enfermedades en Chile..</b>	<b>34</b>
9. <b>Conclusión.....</b>	<b>37</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>39</b>
<b>CAPÍTULO II: Bacterias potencialmente patógenas de los géneros <i>Bartonella</i>, <i>Coxiella</i> y <i>Rickettsia</i> en artrópodos vectores asociados a poblaciones de <i>Rattus rattus</i> en Chile.....</b>	<b>68</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>68</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>70</b>
<b>1. Introducion .....</b>	<b>72</b>
<b>2. Hipótesis.....</b>	<b>75</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>75</b>
<b>4.Materiales y Métodos.....</b>	<b>76</b>
<b>5. Resultados .....</b>	<b>87</b>
<b>6. Discusión .....</b>	<b>107</b>

<b>7. Conclusión .....</b>	<b>121</b>
<b>8. Anexos.....</b>	<b>123</b>
<b>Referencias .....</b>	<b>125</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS DE CAPÍTULO I

1. Comparación de largo de cuerpo y de cola de las especies de roedores urbanos (Extraído desde Bonnefoy et al., 2008) .....	9
--	---

## ÍNDICE DE FIGURAS DE CAPÍTULO II

1. Mapa de Chile indicando las localidades de muestreo de roedores subdividido; Azul: región Urbana (Ciudad), Verde: región rural, Naranja: regiones silvestres.....	77
2. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de <i>Bartonella</i> basado en la región <i>rpoB</i> .....	98
3. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de <i>Bartonella</i> basado en la región <i>gltA</i> .....	100
4. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de <i>Bartonella</i> basado en la región <i>ITS</i> .....	101
5. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de <i>Rickettsia</i> basado en la región <i>ompB</i> .....	102
6. Red de haplotipos para <i>Bartonella</i> usando secuencias de la región <i>rpoB</i> extraídas de ectoparásitos de <i>Rattus rattus</i> en diferentes localidades de Chile.....	104

7. Red de haplotipos para <i>Bartonella</i> usando secuencias de la región <i>gltA</i> extraídas de ectoparásitos de <i>Rattus rattus</i> en diferentes localidades de Chile.....	105
8. Red de haplotipos para <i>Bartonella</i> usando secuencias de la región <i>ITS</i> extraídas de ectoparásitos de <i>Rattus rattus</i> en diferentes localidades de Chile.....	106

## ÍNDICE DE TABLAS DE CAPÍTULO I

1. Temas revisados y respectivos intervalos de años de publicación .....	6
2. Características y comportamiento de las principales especies de roedores sinantrópicos comensales.....	11
3. Especies de <i>Bartonella</i> asociadas o potencialmente asociadas a enfermedades en humanos, sus distribuciones y vectores.....	22
4. Rickettsiosis humana documentada en el hemisferio occidental.....	32

## ÍNDICE DE TABLAS DE CAPÍTULO II

1. Localidades incluidas en esta investigación. Se indica grado de antropización con sus respectivas localidades, coordenadas y número, este último es indicado en el mapa a continuación.....	76
2. Genes y cebadores utilizados para la caracterización molecular de <i>Bartonella</i> spp. y <i>Rickettsia</i> spp. en PCR convencional.....	83
3. Descriptores parasitológicos para ácaros, garrapatas, piojos y pulgas en las distintas zonas de antropización (ciudad, rural y silvestre). En la tabla se indican los intervalos de confianza (95%) abajo cada valor de prevalencia (P%), abundancia media (AM) e intensidad media (IM).....	87
4. Número de ectoparásitos (ácaros, garrapatas, piojos y pulgas) recolectados por cada estación.....	88
5. Índices parasitológicos para las distintas zonas de antropización por especie y grupo de ectoparásito. Al lado derecho de cada valor se indica entre paréntesis el intervalo confianza	

(95%). AM: abundancia media, P%: Prevalencia, IM: Intensidad media, Antr.: Grado de antropización, C: Ciudad, R: Rural, S: Silvestre.....	91
6. Muestras analizadas para la presencia de <i>Bartonella</i> y <i>Rickettsia</i> por cada grupo de ectoparásito en cada Grado de antropización. Las muestras positivas de cada bacteria se consideraron con al menos uno de los 3 genes positivos (para <i>Bartonella</i> : <i>gltA</i> , <i>ITS</i> , <i>rpoB</i> ; para <i>Rickettsia</i> : <i>gltA</i> , <i>OmpA</i> , <i>OmpB</i> ).....	96
7. Número de muestras analizadas y positivas a <i>Bartonella</i> y <i>Rickettsia</i> mediante PCR real time (qPCR) y convencional (cPCR).....	97
8. Secuenciaciones de productos de <i>Bartonella</i> spp. extraídos de ectoparásitos, con su identidad cercana a BLASTn por locus objetivo.....	97
9. Secuenciaciones de productos de <i>Rickettsia</i> spp. extraídos de ectoparásitos, con su identidad cercana a BLASTn por locus objetivo.....	97
10. Resultados del Modelo Lineal Generalizado con distribución binomial para cada género de bacteria. * Indica significativo.....	107

## RESUMEN

La biología y distribución de tres especies de roedores sinantrópicos, *Rattus norvegicus* (rata gris), *Rattus rattus* (rata de techo) y *Mus musculus* (ratón casero), junto con los patógenos zoonóticos transmitidos por sus ectoparásitos, es esencial para comprender y prevenir la propagación de enfermedades como la capilariosis hepática, babesiosis, leishmaniasis, fiebre de Lassa y fiebre hemorrágica con síndrome renal en áreas urbanas. Además de enfermedades como la tuberculosis y la salmonella, los roedores pueden transmitir bacterias como *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia pestis*, entre otras. Las pulgas son los ectoparásitos más comunes en roedores sinantrópicos, transmitiendo alrededor del 12% de las enfermedades. El crecimiento urbano favorece a los roedores sinantrópicos sobre las especies silvestres, aumentando así la prevalencia y diversidad de patógenos transmitidos por estos animales. En este estudio se explora la distribución de bacterias zoonóticas transmitidas por ectoparásitos asociados a roedores sinantrópicos, como *Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia*. Estos patógenos están relacionados con enfermedades de alta prevalencia en varios países; sin embargo, aún existen lagunas en el conocimiento sobre sus vectores, reservorios y hospedadores. La revisión bibliográfica aborda la conducta alimentaria, hábitos y comportamiento social de los roedores sinantrópicos, como *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* y *Mus musculus*. Como la presencia y transmisión de tres bacterias zoonóticas a nivel global: *Bartonella*, *Coxiella burnetii* y *Rickettsiae*. *Bartonella*, transmitida por vectores y con roedores como importantes reservorios, puede causar enfermedades como la enfermedad de Carrión y la fiebre de trinchera. *Coxiella burnetii*, responsable de la fiebre Q, se transmite principalmente por aerosoles y contacto con animales infectados. Las *Rickettsiae*, transmitidas por artrópodos vectores como pulgas y garrapatas, causan enfermedades graves como la fiebre manchada y el tifus murino. Los roedores son reservorios comunes de estos artrópodos, contribuyendo a la propagación de estas enfermedades. En Chile, los roedores actúan como portadores de una amplia gama de enfermedades zoonóticas transmitidas por virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoos, con un énfasis particular en los patógenos transmitidos por artrópodos hematófagos. Las pulgas, como *X. cheopis* y *L. segnis*, presentes en ratas como *R. rattus*, son vectores de enfermedades como la Peste, *Bartonella* y *Rickettsia*. Además, los ácaros, ácaros trombicúlidos y piojos también pueden transmitir enfermedades como el tifus de los matorrales. Se cree que *Herpetacarus sp.* podría ser un vector del tifus de los matorrales en Chile. Las garrapatas, que se encuentran en roedores como *R. norvegicus* y *R. rattus*, pueden transmitir enfermedades tanto a perros como a humanos, lo que representa un riesgo epidemiológico

significativo. En resumen, los roedores en Chile son reservorios de diversas enfermedades transmitidas por ectoparásitos, lo que supone un riesgo para la salud pública. La conclusión resalta la importancia de profundizar en nuestro conocimiento sobre las bacterias transmitidas por ectoparásitos en roedores sinantrópicos, cuya amplia distribución global los convierte en actores relevantes para la salud pública. La falta de estudios sobre la presencia y el papel de estos patógenos en los ectoparásitos se atribuye a las dificultades logísticas de capturar roedores sinantrópicos. Además, la transferencia de patógenos entre la fauna silvestre y sinantrópica puede influir en la dinámica de transmisión de enfermedades. Se subraya la necesidad de más investigación para comprender la ecología de estos patógenos y sus implicaciones para la salud humana, especialmente en el contexto de la creciente urbanización en Chile y América Latina. Se sugiere que las nuevas técnicas moleculares, como la secuenciación, podrían ayudar a abordar los desafíos en la identificación microbiológica y mejorar la efectividad de las estrategias de control de enfermedades.

**Palabras claves:** Roedores sinantrópicos, Ectoparásitos, Zoonosis, Bacterias transmitidas, Salud pública.

## ABSTRACT

The biology and distribution of three synanthropic rodent species, *Rattus norvegicus* (gray rat), *Rattus rattus* (roof rat) and *Mus musculus* (house mouse), along with the zoonotic pathogens transmitted by their ectoparasites, is essential to understand and prevent the spread of diseases such as hepatic capillariasis, babesiosis, leishmaniasis, Lassa fever and hemorrhagic fever with renal syndrome in urban areas. In addition to diseases such as tuberculosis and salmonella, rodents can transmit bacteria such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Yersinia pestis*, among others. Fleas are the most common ectoparasites in synanthropic rodents, transmitting about 12% of diseases. Urban growth favors synanthropic rodents over wild species, thus increasing the prevalence and diversity of pathogens transmitted by these animals. This study explores the distribution of zoonotic bacteria transmitted by ectoparasites associated with synanthropic rodents, such as *Bartonella*, *Coxiella* and *Rickettsia*. These pathogens are associated with highly prevalent diseases in several countries; however, there are still gaps in knowledge about their vectors, reservoirs and hosts. The literature review addresses the feeding behavior, habits and social behavior of synanthropic rodents, such as *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* and *Mus musculus*. Such as the presence and transmission of three zoonotic bacteria globally: *Bartonella*, *Coxiella burnetii* and *Rickettsiae*. *Bartonella*, transmitted by vectors and with rodents as important reservoirs, can cause diseases such as Carrion's disease and trench fever. *Coxiella burnetii*, responsible for *Q fever*, is transmitted mainly by aerosols and contact with infected animals. *Rickettsiae*, transmitted by arthropod vectors such as fleas and ticks, cause serious diseases such as spotted fever and murine typhus. Rodents are common reservoirs of these arthropods, contributing to the spread of these diseases. In Chile, rodents act as carriers of a wide range of zoonotic diseases transmitted by viruses, bacteria, fungi, helminths and protozoa, with particular emphasis on pathogens transmitted by hematophagous arthropods. Fleas, such as *X. cheopis* and *L. segnis*, present on rats such as *R. rattus*, are vectors of diseases such as *plague*, *Bartonella* and *Rickettsia*. In addition, mites, trombiculid mites and lice can also transmit diseases such as scrub typhus. It is believed that *Herpetacarus sp.* could be a vector of *scrub typhus* in Chile. Ticks, found on rodents such as *R. norvegicus* and *R. rattus*, can transmit diseases to both dogs and humans, representing a significant epidemiological risk. In summary, rodents in Chile are reservoirs of various diseases transmitted by ectoparasites, which poses a risk to public health. The conclusion highlights the

importance of deepening our knowledge on bacteria transmitted by ectoparasites in synanthropic rodents, whose wide global distribution makes them relevant actors for public health. The lack of studies on the presence and role of these pathogens in ectoparasites is attributed to the logistical difficulties of capturing synanthropic rodents. In addition, the transfer of pathogens between wildlife and synanthropic fauna may influence the dynamics of disease transmission. The need for further research to understand the ecology of these pathogens and their implications for human health is highlighted, especially in the context of increasing urbanization in Chile and Latin America. It is suggested that new molecular techniques, such as sequencing, could help address challenges in microbiological identification and improve the effectiveness of disease control strategies.

**Key words:** Synanthropic rodents, Ectoparasites, Zoonoses, Transmitted bacteria, Public health.

## Introducción General

Los roedores murinos representan casi un tercio de las especies de mamíferos y son cruciales para la salud pública. Las especies sinantrópicas, como *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus*, viven en estrecha asociación con los humanos y se encuentran en ambientes urbanos, rurales y silvestres (Steppan et al., 2004; Himsforth et al., 2013). La abundancia y composición de estas especies varía según el entorno. En áreas rurales, la abundancia de roedores introducidos disminuye y aumentan los silvestres debido a la proximidad de hábitats naturales. En ambientes silvestres, predominan los roedores nativos, mientras que los introducidos están menos representados (Monteverde et al., 2017).

Los roedores son hospedadores de al menos 66 enfermedades zoonóticas causadas por diversos patógenos como virus, bacterias y parásitos (Han et al., 2015). Entre estos patógenos, los transmitidos por artrópodos hematófagos son especialmente relevantes, ya que aproximadamente el 12% de las enfermedades asociadas a los roedores son transmitidas por ectoparásitos como pulgas, ácaros y piojos (Han et al., 2015; Berdoy et al., 1995; Chakma et al., 2017). Las garrapatas, aunque importantes vectores en general son menos relevantes en roedores sinantrópicos pero cruciales en roedores silvestres, contribuyendo a la transmisión de bacterias del género *Borrelia* en áreas rurales (Mihalca et al., 2012; Hornok et al., 2015).

Patógenos significativos transmitidos por ectoparásitos de roedores incluyen bacterias de los géneros *Rickettsia*, *Bartonella*, *Coxiella* y *Orientia* (Loftis et al., 2006; Labruna et al., 2007; Padovan, 2006; Solís-Hernández et al., 2016; Abarca et al., 2018). La investigación se centrará en las bacterias *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella*, debido a su potencial patógeno y transmisión por artrópodos asociados a ratas y ratones. Aunque estos roedores están ampliamente distribuidos y son importantes para la salud humana, hay una falta de conocimiento sobre los vectores, reservorios y factores ambientales que afectan la distribución de estas bacterias (Armien et al., 2016).

La expansión urbana altera las comunidades de roedores, favoreciendo a las especies generalistas y sinantrópicas y aumentando el contacto humano con ectoparásitos infectados (Bradley & Altizer, 2007; Faeth et al., 2005; Fantozzi, 2019). Esto puede incrementar la prevalencia y diversidad de patógenos, lo que impacta significativamente la salud pública, ya que la transmisión de enfermedades es más rápida en entornos urbanos densamente poblados (Blasdel et al., 2019).

Las zonas rurales también son cruciales en la epidemiología de enfermedades infecciosas, actuando como puntos de interacción entre especies silvestres y domésticas. Investigaciones en Chile muestran una mayor prevalencia de *Bartonella* y *Rickettsia* en pulgas de ratas en zonas rurales, lo que sugiere un mayor contacto entre roedores nativos y sinantrópicos (Moreno et al., 2019; 2020).

Evaluar cómo el cambio en las comunidades de ectoparásitos de roedores afecta la presencia de patógenos es fundamental para comprender las dinámicas de las enfermedades zoonóticas y proponer medidas de manejo efectivas. Aunque existe abundante literatura sobre roedores sinantrópicos, la información sobre patógenos transmitidos por ectoparásitos es limitada, lo que se debe en parte a la dificultad en la recolección de estos parásitos y la captura de roedores en entornos urbanos (Nava et al., 2003; Himsforth et al., 2014).

## **CAPÍTULO I: Características biológicas de las diferentes poblaciones de roedores sinantrópicos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* y *Mus musculus*) y distribución de patógenos zoonóticos transmitidos por ectoparásitos (*Bartonella*, *Coxiella burnetii* y *Rickettsia*)**

### **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### **1. Introducción**

Entre las especies de animales asociadas al humano y sus construcciones, los roedores comúnmente conocidos como rata gris, parda o rata de alcantarilla (*Rattus norvegicus*), rata de techo o negra (*Rattus rattus*) y ratón casero (*Mus musculus*), son los más relevantes en la investigación en salud pública, especialmente en entornos urbanos. Estas especies de roedores se describen como sinantrópicas o comensales, dado que habitan en estrecha relación con el humano (Greaves, 1984). Debido a este contacto cercano con los seres humanos, sus adaptaciones biológicas y estilo de vida, asociado a las condiciones particulares del entorno urbano, aumentan la probabilidad de transmisión de patógenos a la población humana con diversos grados de vulnerabilidad y condiciones socioeconómicas (Singleton et al., 1993; Moro et al., 1999; Han et al., 2015).

Los roedores son unos de los principales reservorios de enfermedades, con cerca de 66 enfermedades zoonóticas (Meerburg et al., 2009; Luis et al., 2013; Buckle & Smith, 2015; Chaisiri et al., 2015; Han et al., 2015). Entre las enfermedades más importantes, en términos de salud pública, se encuentra la capilariosis hepática, la babesiosis zoonótica, leishmaniasis, toxoplasmosis, la fiebre de Lassa, fiebre hemorrágica con síndrome renal, síndrome cardiopulmonar por hantavirus y fiebre hemorrágica sudamericana (Meerburg et al., 2009; Shimi et al., 1979; Reperant et al., 2005; Riehm et al., 2011; Obiegala et al., 2015; Goeijenbier et al., 2013). Además, los roedores pueden albergar diferentes bacterias, como *Mycobacterium tuberculosis* (Tuberculosis) y *Mycobacterium microti*, *Escherichia coli*, *Francisella tularensis* (agentes de tularemia), espiroquetas del género *Borrelia* (fiebre recurrente transmitida por garrapatas), *Streptobacillus moniliformis*, *Spirillum minus* (fiebre por mordedura de rata), *Salmonella* (salmonelosis), *Yersinia pestis* (peste bubónica o negra), *Leptospira* (leptospirosis), *Bartonella* (bartonelosis), *Listeria monocytogenes* (meningitis), *Coxiella burnetii* (fiebre Q), y ehrlichiosis, entre otras (van Soolingen et al., 1998, Rabiee et al., 2018).

Aproximadamente el 12% de las enfermedades mencionadas anteriormente son transmitidas por ectoparásitos. Entre ellos, los más prevalentes en roedores sinantrópicos son las pulgas, seguidos de los ácaros y los piojos (Berdoy et al. 1995; Chakma et al., 2015). Aunque, las garrapatas son reconocidas como uno de los principales vectores de agentes infecciosos, no tienen mucha relevancia en roedores sinantrópicos, ya que estos animales rara vez son parasitados por garrapatas (Mihalca et al., 2012; Hornok et al., 2015).

Si tenemos una visión más amplia, el crecimiento de la población humana que tiene como consecuencia su expansión urbana, modifica la estructura de las comunidades de roedores, favoreciendo a las especies generalistas y sinantrópicas, en detrimento de los roedores silvestres nativos especializados (Bradley & Altizer, 2007; Faeth et al., 2005; Galbraith et al., 2015; Hassel et al., 2017). Esto, a su vez, puede producir un impacto importante en las enfermedades transmitidas, debido al aumento en la prevalencia y diversidad de patógenos albergados por roedores (Werden et al., 2014; Bordes et al., 2015).

Entre las bacterias relevantes para la salud pública y que son transmitidas por ectoparásitos asociados a roedores sinantrópicos se encuentran las bacterias pertenecientes a los géneros *Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia*. Aunque estos patógenos están relacionados con enfermedades de alta prevalencia en varios países, todavía existen vacíos en el conocimiento sobre aspectos relacionados con los vectores, reservorios y hospedadores de estas bacterias y su distribución entre diferentes hospedadores y ambientes.

*Bartonella* son bacterias Gram negativas intracelulares transmitidas por artrópodos vectores que infectan una amplia gama de mamíferos, entre ellos los roedores son importantes reservorios de *Bartonella* (Ying et al., 2002; Favacho et al., 2015; Gonçalves et al., 2016). Entre los artrópodos vectores, la pulga del gato (*Ctenocephalides felis*) y la pulga del perro (*Ctenocephalides canis*), representan las especies más importantes a nivel mundial (Regier et al., 2016). Estas bacterias comprenden un grupo amplio en cuanto a especificidad, distribución, patogénesis y diversidad genética (Arvand et al., 2010; Harms & Dehio, 2012; Mckee et al., 2016, Breitschwerdt et al., 2019).

Por otra parte, las rickettsiosis, enfermedades causadas por bacterias patógenas del género *Rickettsia* y *Orientia*, pertenecientes a la familia *Rickettsiaceae* son también transmitidas por artrópodos (Renvoisé et al., 2009). *Rickettsia felis* y *Rickettsia typhi*, son agentes etiológicos zoonóticos transmitidos por pulgas y garrapatas que infestan, entre otros animales, roedores, aves, gatos y, eventualmente, seres humanos. Estas bacterias han sido detectadas mediante

técnicas de diagnóstico molecular y serológico en *M. musculus* y *R. rattus* (Panti-May et al., 2015a; Peniche-Lara et al., 2015; Ortiz-Martínez, 2016) y sus ectoparásitos (Peniche-Lara et al., 2015).

Otra patología asociada a garrapatas es la fiebre Q, enfermedad producida por la bacteria *Coxiella burnetii*, que se encuentra entre las enfermedades desatendidas que pueden asociarse con los roedores. Los reservorios de *C. burnetii* incluyen una amplia gama de hospederos no solo limitándose a mamíferos (Fenollar et al., 2004). La transmisión del patógeno ocurre principalmente, aunque no exclusivamente, a través del aire, y se postula que las garrapatas del género *Ixodes* podrían desempeñar un papel como vectores (Duron et al., 2015). Sin embargo, es importante destacar que su contribución en la transmisión parece ser secundaria, ya que hasta la fecha solo se ha demostrado en condiciones experimentales y no en situaciones naturales (Duron et al., 2015). Esta bacteria ha sido detectada en *R. norvegicus* y *R. rattus*, hecho que ha llevado a identificar que son reservorios y que además ayudan a transmitir la enfermedad (Liu et al., 2010).

En Chile, se han identificado diferentes bacterias que usan como reservorio a los roedores tanto silvestres como sinantrópicos, teniendo como vector intermediario a diferentes especies de garrapatas y pulgas, de las cuales destacan *Borrelia chilensis*, *R. typhi*, *R. felis* y *Bartonella henselae*, además de otras especies sin identificar del género *Rickettsia* y *Bartonella* (Nowak, 1999; Solís-Hernández et al., 2016, Moreno et al., 2019; 2020; Abarca et al., 2020).

Para comprender como la biología de los hospedadores influye en la presencia y distribución de bacterias con potencial zoonótico, esta revisión tuvo como objetivos: 1) Describir la biología y las historias de vida de los roedores sinantrópicos *R. norvegicus*, *R. rattus* y *M. musculus*, así como las enfermedades relevantes en salud pública asociadas a ellos; y 2) Sintetizar el estado actual del conocimiento sobre los patógenos zoonóticos de los géneros *Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia*, transmitidos por artrópodos vectores asociados a los mencionados roedores sinantrópicos.

## **2. Metodología de la revisión bibliográfica**

En esta revisión se incluyeron artículos de todo tipo publicados en revistas científica de especialidad revisadas por pares, además de libros y capítulos de libros relacionados con las tres bacterias transmitidas por ectoparásitos de roedores: *Rickettsia*, *Bartonella* y *Coxiella*. La

búsqueda de información se realizó en buscadores de bases de datos en línea incluyendo Scielo (Scientific Electronic Library Online), PubMed, Google Académico, Scopus y Web of Science (WOS), utilizando las palabras clave: *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, Ecology, Rat, Rat Urban, áreas rurales, silvestres, Chile, clase mundial, Roedores sinantrópicos, Hospedador, Humano, Ectoparásitos, Zoonosis, Reservorio, Biología, Epidemiología, combinando cada una con las principales palabras claves (*Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia*), solo con las otras palabras o combinándolas con “OR” y/o “AND”. Se incluyeron en la revisión todos los artículos científicos publicados desde el más antiguo encontrado en 1945 hasta el primer trimestre de 2023.

Luego de investigar las palabras clave, se analizaron los títulos, se inició la lectura de los resúmenes y manuscritos completos y comenzó la revisión bibliográfica. Se seleccionaron los artículos de respectivos intervalos de años de publicación que componen este estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Temas revisados y respectivos intervalos de años de publicación.

Temas	Año de publicación
Historia de vida de roedores sinantrópicos	1945 - 2020
Fuentes ambientales que afectan a las poblaciones de roedores sinantrópicos: clima y estación	1953 - 2010
Entorno urbano y rural asociado con la presencia de roedores y enfermedades	1987 - 2023
Principales enfermedades zoonóticas transmitidas por roedores	1981 - 2023
<i>Rickettsiae</i> , <i>Bartonella</i> y <i>Coxiella burnetii</i> a nivel mundial	1935 - 2023
Roedores como hospedadores de ectoparásitos vectores de enfermedades en Chile	1965 - 2023
Conclusiones	2004 - 2017

### 3. Desarrollo

#### 3.1 Historia de vida de roedores sinantrópicos

Dentro de los mamíferos, los roedores (Rodentia) son el orden más rico en especies, actualmente con 2280, lo que equivale al 42% de las especies de mamíferos descritos (Luis et

al., 2013; Sahley et al., 2015). Además, representan uno de los grupos de mamíferos con la más amplia distribución a nivel mundial (Meerburg et al., 2009). Estos poseen la mayor diversidad de especies plaga con una amplia gama de impactos en la vida humana, reflejado en la agricultura, áreas urbanas, ecosistemas, silvicultura, salud pública entre otros (Singleton et al., 1999).

De las especies sinantrópicas *R. norvegicus*, *R. rattus* y *M. musculus*, son las especies más comunes. Actualmente están distribuidas en todo el mundo, excepto en la Antártica y algunas islas oceánicas (Krystufek et al., 2016). Estas especies difieren en su capacidad de adaptación a los entornos urbanos (Gravinatti et al., 2020), lo que conlleva a diferencias en el impacto económico y de salud causados al humano (Costa et al., 2015).

Podemos decir, que estas especies invaden ambientes silvestres, compitiendo y atacando especies nativas, y además modificando el ambiente físico. Corresponden a los mamíferos más problemáticos desde el punto de vista de la salud pública, debido a la amplia variedad de patógenos que transmiten al humano, lo que es favorecido por el estrecho contacto entre ambos (Himsworth et al., 2013).

### **3.1.1 Origen y distribución de *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* y *Mus musculus***

*Rattus norvegicus* es una especie nativa de China (Nowak, 1999; Song et al., 2014) siendo transportado a diferentes partes del mundo, debido al comercio con Europa durante el siglo XVIII (Vigne & Desse-Berset, 1995), llegando también a gran parte de América del norte y África (Nowak, 1999; Song et al., 2014), islas mediterráneas (Cheylan, 1984) e islas oceánicas (Abdelkrim et al., 2005). Esta especie tiene una preferencia por los climas fríos en las latitudes más altas de los hemisferios norte y sur. Cuando se encuentra en regiones más cálidas y tropicales, se restringe a hábitats altamente modificados por el humano como son las alcantarillas, edificios, puertos, etc. (Ruedas, 2016).

*Rattus rattus* es una especie nativa del subcontinente indio, pero ha colonizado la mayoría de los continentes e islas producto de los movimientos humanos y el comercio internacional (Drake & Hunt, 2009). Existe aún controversia sobre su origen. Nowak (1999) postula que es originario de Malasia, mientras que Musser & Carleton (2005) indican su origen en la India. Sin embargo, estudios más recientes, como el de Aplin et al. (2011) y Baig et al. (2019) exponen la existencia de diversos linajes, cuyos orígenes geográficos están en el sur y sureste de Asia,

donde la especie exhibe su mayor diversidad genética. En cuanto a su preferencia por el clima, algunos datos indican que *R. rattus* es capaz de adaptarse a condiciones climáticas extremadamente frías y adversas (Grzimek, 2003; Pye et al., 1999).

Por otro lado, se estima que la llegada de *M. musculus* al continente americano ocurrió en el siglo XVII (Lobos et al., 2005). Encontrado originalmente en Europa y Asia, es adepto a las áreas continentales y costeras, tropicales y templadas. Actualmente esta especie se encuentra distribuida por todo el mundo, generalmente asociados a viviendas humanas (Battersby et al., 2008; Vadell et al., 2014). De las tres especies, *M. musculus* es la más cercana al ser humano, por lo que no es tan común encontrarlas en áreas naturales (Macholán, 1999; Lobos et al., 2005).

### **3.1.2 Aspectos biológicos y morfológicos**

Debido a varios aspectos de su biología, como, una tasa de reproducción rápida, alimentación omnívora, grandes camadas y plasticidad en su comportamiento, es natural que los roedores (*R. norvegicus*, *R. rattus* y *M. musculus*) sean capaces de vivir en diversos territorios, adaptándose con éxito a entornos urbanos, rurales y silvestres (Whisson et al., 2007; Vadell et al., 2014, Iannucci et al., 2018).

Respecto a su morfología, la principal diferencia entre *R. norvegicus* y *R. rattus* es el tamaño de la cola, ya que el *R. rattus* tiene una cola más grande que el cuerpo (Figura 1). Las tres especies son fieles a los lugares donde se asientan y en el caso de *Rattus* spp., tienen rangos familiares restringidos. Por ejemplo, la dispersión está sesgada en las hembras de *Rattus* spp., mientras que en *M. musculus* es similar en ambos sexos (Gardner-Santana et al., 2009; Davis et al., 1948; Oyedele et al., 2015; Combs et al., 2019; Richardson et al., 2023).

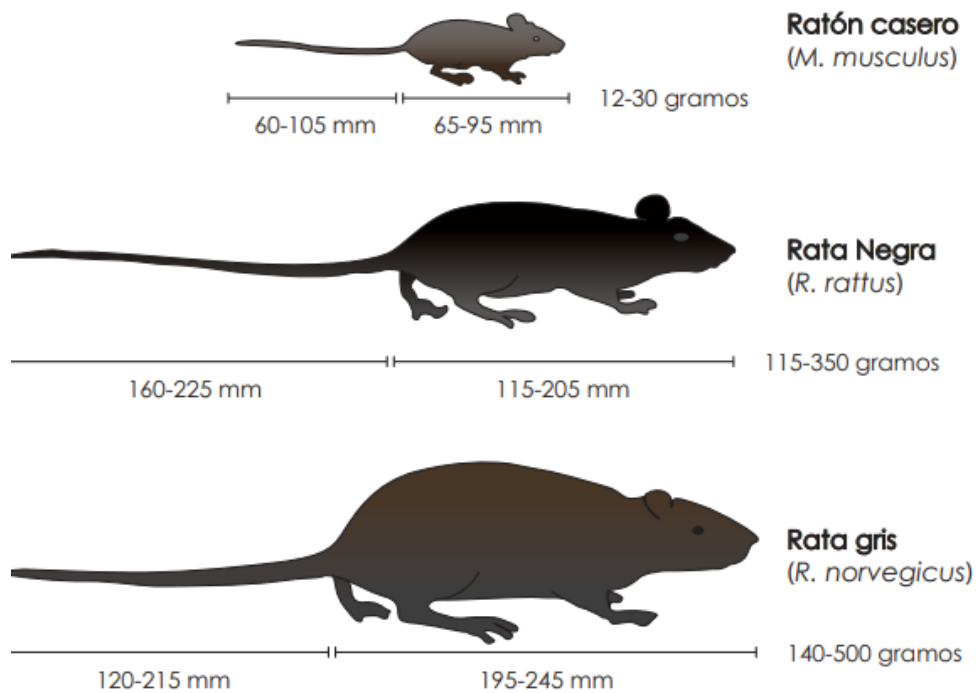


Figura 1. Comparación de largo de cuerpo y de cola de las especies de roedores urbanos (Extraído desde Bonnefoy et al., 2008).

El tamaño y la proporción de sus partes del cuerpo presentan diferencias en estas especies. Para poder reconocerlas de una manera más adecuada, los individuos adultos de *R. norvegicus* son apreciablemente más grande que los *R. rattus*, aunque también puede haber diferencias entre poblaciones de cada especie (Feng & Himsworth, 2014). En principio, las ratas de áreas rurales tienden a ser más pequeñas y alcanzan la madurez sexual un poco más tarde que las ratas de áreas urbanas (Feng & Himsworth, 2014). En un estudio con poblaciones de *R. norvegicus* provenientes de áreas urbanas y rurales de Baltimore, Estados Unidos, se determinó que en las áreas urbanas alcanzan pesos hasta de 625 y 649 g, mientras que en las áreas rurales llegaron entre 450 y 474 g (Davis, 1949).

Las tres especies alcanzan su madurez sexual a una edad distinta, los *R. norvegicus* entre 65-110 días, *R. rattus* entre 30 y 110 días y *M. musculus* entre 55 y 80 días. Siendo el período de gestación de 21 días en promedio para las tres especies. Las crías de *R. norvegicus* y *R. rattus* varían entre 6 a 12 por camada y de *M. musculus* hasta 7 crías por camada (2 a 7; Nowak, 1999; Berdoy & Drickamer, 2007; Oyadele et al., 2015).

En ambientes urbanos, ciertas condiciones son favorables para la reproducción, esta situación se percibe durante todo el año con una expectativa de hasta 5 camadas por año (Davis, 1953; Tamarin & Malecha, 1972). La reproducción es totalmente dependiente de la disponibilidad de

recursos, que a su vez depende del medio ambiente y la densidad de población (Marsh, 1994). Es importante señalar que el número de camadas está relacionado con el tamaño y la madurez de la hembra (Davis, 1951; Perry & Fetherston, 1997).

La rápida maduración y la reproducción frecuente conllevan a que las infestaciones de ratas pueden salirse de control si el entorno es favorable. Pueden ocurrir períodos de reproducción intensiva, continuando con un período de "descanso" (Perry, 1945). Un factor incidente, son las fluctuaciones estacionales y la disponibilidad de alimentos. Es posible que la densidad poblacional se mantenga estable entre temporadas, pero la estructura poblacional puede verse afectada, pudiendo observarse que la proporción de individuos inmaduros en primavera y verano es mayor, mientras que las hembras maduran y quedan preñadas en otoño (Nowak, 1999; Himsworth et al., 2014). En regiones con climas templados, existe una variación en las actividades reproductivas, este hecho se ha asociado con estas estaciones, observándose un pico reproductivo entre primavera y otoño y una disminución en invierno (Davis, 1953; Margulis, 1977; Tamarin & Malecha, 1972). En regiones de climas tropicales, existen variaciones estacionales en las que la actividad reproductiva es menor (Davis, 1953; Tamarin & Malecha, 1972). Por tanto, la estacionalidad reproductiva interfiere directamente en la fisiología de las ratas (Perry, 1945). Además, la edad reproductiva está relacionada con la tasa de fecundidad entre las hembras jóvenes y las adultas, ya que las hembras grandes y maduras pueden reproducirse a una tasa constante, de al menos una camada por estación (Davis, 1953).

El tamaño de la población de estos roedores está influenciado por factores ambientales (Davis, 1953; Margulis, 1977). No obstante, los cambios climáticos también pueden afectar la dinámica poblacional (Davis & Christian, 1956). Este fenómeno, conocido como dinámica poblacional, se refiere a los cambios en el tamaño de una población a lo largo del tiempo. Por ejemplo, los cambios naturales en el tamaño de la población pueden ser el resultado de la supervivencia de los jóvenes, independientemente de las tasas de reproducción (Vadell et al., 2010). En resumen, varios factores, incluidos los ambientales y climáticos, pueden influir en la dinámica poblacional de los roedores, lo que subraya la complejidad de su ecología y comportamiento.

Las tres especies de roedores tienen vida relativamente corta en condiciones naturales con una duración de aproximadamente un año y un máximo de 3 años (Davis, 1953). Se estima que menos del 5% de los individuos llegan a vivir un año en condiciones naturales (Greaves, 1984).

La tabla 2 presenta las características y comportamiento de las principales especies de roedores sinantrópicos comensales, como *Peso*, *Contextura corporal*, *Longitud*, *Cuerpo + cabeza*, *Cola*,

Orejas, Hocico, Forma de las heces, Hábitat, Habilidades físicas, Rango de hogar, Alimentación, Neofobia, Huellas de tránsito, Gestación, Camada / Año, cachorros/ Camada, Edad de destete, Edad de madurez sexual y Esperanza de vida promedio.

Tabla 2- Características y comportamiento de las principales especies de roedores sinantrópicos comensales.

<b>Características y comportamiento</b>	<b><i>Rattus norvegicus</i></b>	<b><i>Rattus rattus</i></b>	<b><i>Mus musculus</i></b>
Peso (g)	140 - 500	115 – 350	12 - 30
Contextura corporal	Robusto	Delgado	Delgado
Longitud cuerpo + cabeza (mm)	195 - 245	115 – 205	65 - 95
Longitud Cola (mm)	120 - 215	160 – 225	60 - 105
Orejas	Relativamente pequeñas, generalmente sobresalen poco del pelaje: 20 mm a 23 mm	Grandes y prominentes, delgadas, lampiñas: de 25 mm a 28 mm	Grandes para el tamaño del animal: 10 mm
Hocico	Achatado	Aguzado	Aguzado
Forma de las heces	En forma de cápsula con extremos romos	Fusiformes	En forma de varilla
Hábitat	Madrigueras y galerías en sótanos, orillas de río, vertederos, interior de las instalaciones, más comúnmente fuera de la casa	Revestimientos, áticos, trasteros, silos y almacenes; pueden vivir en árboles, más común dentro del hogar	Dentro de muebles, despensas, gabinetes, generalmente dentro de la casa

Habilidades físicas	Nadador habilidoso, también es hábil cavando hoyos en el suelo	Escalador habilidoso. Rara vez cava hoyos	Escalador habilidoso. Puede cavar madrigueras
Rango de hogar	Aproximadamente 50 m <sup>2</sup>	Aproximadamente 60 m <sup>2</sup>	Aproximadamente de 3 m <sup>2</sup> - 5 m <sup>2</sup>
Alimentación	Omnívoro, prefiere cereales, carnes, huevos y frutas	Omnívoro, preferencia por verduras, frutas y cereales	Omnívoro, preferencia por granos y semillas.
Neofobia	Presenta neofobia marcada en lugares con poco tráfico.	Presentan neofobia marcada	Tienen un hábito exploratorio (neofilia).
Huellas de tránsito	Cerca del suelo, cerca de las paredes, en forma de manchas de grasa. Forman senderos en el suelo que provocan el desgaste de la vegetación. Presencia de huellas, heces y pelos.	Manchas de grasa junto al techo de madera, tubos y cables. Presencia de pelos y heces	Son difíciles de ver, pero se pueden ver manchas de grasa cerca de los zócalos, paredes y agujeros por donde pasan
Gestación (días)	22	20 – 22	19 - 21
Nº Camadas / Año	8 - 12	4 – 8	5 - 6
Nº Crías / Camada	7 - 12	7 – 12	3 - 8
Edad de destete (días)	28	28	25
Edad de madurez sexual (días)	65 - 110	30 – 110	55 - 80
Esperanza de vida promedio (meses)	12 - 32	12 – 32	12 - 32

Fuente: National Center for Epidemiology (Cenepi) of the National Health Foundation (FUNASA), (2002).

### 3.1.3 Conducta alimentaria

Las tres especies son omnívoras: *R. norvegicus* prefiere cereales, carnes, huevos y frutas; *R. rattus* prefiere verduras, frutas y cereales y *M. musculus* muestra preferencia por granos y semillas (Clapperton, 2019). A pesar de esto, las ratas (*R. norvegicus* y *R. rattus*) son especies oportunistas, las cuales se alimentan de acuerdo con la disponibilidad de alimentos (Traweger & Slotta-Bachmayr, 2005). Tienen la costumbre de repetir los caminos para ir a alimentarse, formando senderos, los cuales son visibles. Un detalle fisiológico interesante es que estos animales no vomitan, debido a la posición anatómica de su glotis. Las ratas (*R. norvegicus* y *R. rattus*) y los ratones (*M. musculus*) prefieren los alimentos frescos y desprecian los alimentos estropeados, en fermentación o ácidos. Sus necesidades de agua varían según la especie y el tipo de dieta que tengan (National Health Foundation, 2002).

En ambientes urbanos, estas especies se encuentran dentro de casas, en bodegas e industrias, en plazas, parques y lotes baldíos, donde hay disponibilidad de alimento, acumulación de basura, disponibilidad de madrigueras y vegetación (Vadell et al., 2010; Oyadele et al., 2015). En ausencia de recursos naturales como fuente nutricional, se observa que los desechos se reemplazan como estándar dietético para *R. rattus* y *R. norvegicus* (Glass et al., 1988; Traweger & Slotta-Bachmayr, 2005). La dieta de estas ratas está determinada por el volumen de las comidas. Estas diferencian entre trozos pequeños de comida (migas, harina, trigo, etc.) los cuales no tienen problemas en consumir en el lugar en que haya sido encontrado, a diferencia de los trozos más grandes, que tienden a transportarse a un área aislada para su consumo sin interrupciones (Barnett & Spencer, 1951; Whishaw & Whishaw, 1996). A las ratas no les gustan las áreas abiertas y buscan alimentarse bajo los techos de las construcciones (Barnett & Spencer, 1953; Barnett, 1956; Takahashi & Lore, 1980), a excepción de las ratas dominantes, que consumen comida sobre el techo (Whishaw & Whishaw, 1996).

Las ratas son generalmente nocturnas y la mayoría de las veces comen justo antes o al atardecer (Barnett & Spencer, 1951). Al existir competencia con las ratas de mayor edad, las más jóvenes prefieren alimentarse más temprano, para evitar conflictos con las mayores (Whishaw & Whishaw, 1996). Se ha demostrado que la lluvia y el clima desaniman a las ratas a salir al aire libre (Frantz & Comings, 1976; Whishaw & Whishaw, 1996), aunque la presencia de humanos no es un impedimento para que las ratas cambien sus patrones de comportamiento y alimentación (Takahashi & Lore, 1980; Whishaw & Whishaw, 1996).

### 3.1.4 Hábitos y comportamiento social

Los roedores sinantrópicos tienen características de comportamiento en común, específicamente actividades predominantemente nocturnas; comienzan a buscar comida a las primeras horas del anochecer con un segundo período de incursiones antes del amanecer. Solo en casos de sobrepoblación o peligro se les ve durante el día (National Health Foundation, 2002).

*Rattus norvegicus* a su vez, cohabita con los seres humanos, esta especie prefiere lugares abandonados, utilizándolos de refugio (Childs et al., 1998; Kosoy et al., 1998) o crean su refugio cavando. La evidencia actual indica que la presencia de suelo natural es un fuerte aliado de las poblaciones de *R. norvegicus* (Cavia et al., 2009) y son raras en áreas con poco suelo (Traweger & Slotta-Bachmayr, 2005). *Rattus rattus*, por otro lado, puede trepar verticalmente con gran facilidad, y es común encontrarla en edificios (Cavia et al., 2009). Son ratas astutas, aprovechando huecos de árboles o grietas, así como nidos elaborados por otras especies. Los nidos construidos en árboles pueden estar ubicados entre 150 y 230 cm del nivel del suelo, para cuya construcción utilizan ramas y hojas de árboles que suelen tener dimensiones de 17 x 25 cm (Borroto-Páez, 2013). *Mus musculus* puede habitar en grietas o muros de piedra, aunque puede construir madrigueras en suelos blandos. Las madrigueras son cortas con un túnel de aproximadamente 2,5 centímetros de diámetro que se extiende unos 30 cm o más con una o varias curvas, terminando en una cámara circular de unos 15 cm de diámetro. Sin embargo, algunas madrigueras pueden ser más complejas, con varias cámaras y varias salidas (Berry, 1970).

Los roedores del género *Rattus* son muy precavidos y desconfiados, evitando el contacto con objetos o alimentos recién introducidos en su territorio (neofobia). Estos esperan que los miembros menos cautelosos entren en contacto con ellos y si no hay peligro evidente, se acercan. Esto se puede diferenciar con los ratones, los cuales son menos cautelosos e incluso curiosos (neofilia) con cualquier situación que haya surgido en su territorio, identificándola y acercándose. En caso de peligro inminente, la conducta de escape se extiende a lo largo de la cadena en la colonia, sin que todos perciban la causa real de la amenaza, siempre que un primer animal perciba el peligro e inicie el movimiento de escape, siendo luego imitado por los demás (National Health Foundation, 2002; Mills, 2010; Breed & Moore, 2011).

El tamaño de las colonias o agrupaciones siempre varía conforme al ambiente. Tanto los machos como las hembras se dividen en dominantes (en edad reproductiva) y dominados (muy

jóvenes o viejos) para las tres especies. Los individuos dominantes son más fuertes, más inteligentes y agresivos, habiendo ganado preferencia en el acceso a la comida, la elección de pareja de apareamiento y mejores refugios, mientras que el resto quedan, instalándose en la periferia del territorio. *Mus musculus* forman pequeñas colonias, generalmente compuestas por algunas familias o parejas, mientras que el género *Rattus* no escatima en el número de individuos que puede agregar. Si bien, entre *M. musculus* y *R. rattus* se produce competencia, predomina generalmente la especie *R. norvegicus*, por ser más grandes y agresivas (Arnal Martín, 2021).

Las colonias de la misma especie también compiten entre sí. En algunos casos de sobreabundancia de alimentos, puede haber coexistencia entre diferentes especies en una misma zona, aunque sus territorios estén segregados (Colo et al., 2007).

### 3.1.5 Interacciones sociales

*Rattus norvegicus* y *R. rattus* tienden a formar grupos sociales y familiares, rechazando las amenazas por parte de otros no emparentados a sus grupos, expulsándolos o matándolos (Davis, 1948; Granjon & Cheylan, 1989). *Rattus rattus* puede tener dos o tres hembras dominantes pero subordinadas al macho dominante (Fitte, 2019). Por su parte, *M. musculus* vive en pequeños grupos con un macho dominante y unas 10 hembras y sus crías. Estos grupos de *M. musculus* habitan en un territorio el cual es defendido por el macho dominante (Benavides & Guénet, 2003). Aunque vive en sociedad, carecen de un comportamiento en equipo (Inglis et al., 1996).

Por otra parte, las ratas a menudo ignoran a otros miembros de su colonia, sin embargo, esta situación no ocurre cuando se aparean o duermen en grupos (Barnett & Spencer, 1951). Las peleas son relativamente comunes y es más probable que ocurran disputas por una hembra en celo que por los recursos alimenticios (Barnett & Spencer, 1951; Ziporyn & McClintock, 1991). también está descrito que aumento de la densidad de población y disminución del acceso a recursos aumentaría la ocurrencia de agresiones (Whishaw & Whishaw, 1996).

Un papel importante en la conducta social de las ratas es la jerarquía en sus grupos sociales o familiares. Existe una diferencia entre ratas subordinadas a ratas dominantes, la cual muchas veces se evidencia por el peso de estos, esta característica morfológica genera que en los enfrentamientos las ratas de menor peso tomen actitudes sumisas que incluyen retiradas para evitar cualquier agresión (Segura & Gutiérrez, 2006). Esta situación no se ve en las hembras,

ya que en ellas el peso no es un factor determinante (Ziporyn & McClintock, 1991). Esto puede tener un impacto en el control de la natalidad (Storer & Davis, 1953), ya que el estatus social de la población en la jerarquía poblacional determinará su acceso a los recursos y asociados (Marsh, 1994; Orgain & Schein, 1953; Whishaw & Whishaw, 1996; Ziporyn & McClintock, 1991).

Cuando se trata de competencia interespecífica, el tamaño importa dado que *R. norvegicus* es un poco más grande y agresivo. Se ha observado que la invasión de *R. rattus* u otros especímenes del mismo género los obliga a retirarse de sus nidos, provocando que se refugien en terrenos más altos, lo cual impide acceso a varios recursos del suelo (Barnett & Spencer, 1951; Nagorsen, 2005; Nowak, 1999).

En esta perspectiva, *R. norvegicus* se mueven en lados opuestos de *R. rattus* cuando estas dos especies coexisten. Incluso se ha observado que *R. rattus* son marginadas y se encuentran solo cortos periodos de tiempo en los puertos, donde hay mayor presencia de *R. norvegicus* (Barnett & Spencer, 1951). *Rattus rattus* han sido declaradas en peligro de extinción en varios lugares, debido a la agresividad de *R. norvegicus* (Lund, 1994).

#### **4. Fuentes ambientales que afectan la distribución de las poblaciones de roedores sinantrópicos: clima y estación**

El clima es un factor muy importante, afecta y puede regular la abundancia y distribución de una especie específica. Por ejemplo, la lluvia, se podría considerar uno de los factores climáticos más importantes que afectan a los roedores de manera indirecta, a través de la efectividad de la disponibilidad de recursos alimentarios (Feliciano, 2002). La influencia de las variables climáticas en la dinámica poblacional de las especies ha sido el foco de varios estudios (Lima et al., 2008; Previtali, 2009, 2010).

Los factores climáticos tienen una fuerte influencia relacionada con la distribución global de *R. norvegicus*, *R. rattus* y *M. musculus*, especies que prefieren climas templados y tropicales (Cavia et al., 2009), sobre todo porque las temperaturas impactan directamente en los comportamientos reproductivos (Davis, 1953; Margulis, 1977; Tamarin & Malecha, 1972). Por ejemplo, en el invierno, las adversidades que el clima crea hacen que las ratas busquen refugios más cerrados y sea limitada la copula (Frantz & Comings, 1976). El crecimiento de las poblaciones de ratas urbanas está relacionado con la temporada de invierno, en contraste con el

de las ratas rurales. El aumento de las comunidades de ratas se debe a la falta de competencia entre ellas en el invierno, ya que el alimento es relativamente más fácil de obtener para los roedores (Glass et al., 1988).

## **5. Entorno urbano y rural asociado con la presencia de roedores y enfermedades**

Las especies sinantrópicas son las más abundantes en entornos urbanos y periurbanos (Bradley & Altize, 2007; Evans, 2009). En una escala de paisaje más amplia, la expansión urbana modifica la estructura de las comunidades de roedores, favoreciendo las especies generalistas y sinantrópicas, en detrimento de los roedores silvestres nativos especializados (Bradley & Altizer, 2007; Faeth et al., 2005; Galbraith et al., 2015).

El crecimiento de las ciudades en los últimos 70 años ha hecho que la pobreza urbana también aumente en los países en desarrollo. Este patrón de crecimiento de la pobreza urbana se evidencia por la creación de áreas suburbanas densamente pobladas debido al surgimiento de nuevas centralidades en las áreas de expansión y los centros tradicionales de la ciudad, en un rápido proceso de deterioro y abandono (Lanzafame & Quartesan, 2009). Esto facilita que se creen “parches urbanos”, heterogéneos dentro de las ciudades, dándole la posibilidad de tener un ambiente más adecuado para el establecimiento de ratas y ratones (Bardley & Altizer, 2007; Himsforth et al., 2013; Halliday et al., 2013). Otros factores, como la migración campo-ciudad, los cambios en el uso y tipo del suelo debido a la expansión urbana, impactan en la agricultura, la ganadería y las tierras deforestadas, contribuyendo a la aparición o el resurgimiento de enfermedades en las zonas rurales (Liu et al., 2016). Así, la dinámica de crecimiento urbano y la configuración de las ciudades generan una variabilidad significativa en la prevalencia de enfermedades no solo entre ciudades, sino también dentro de ellas (Liu et al., 2010; Taylor et al., 2008; Krojgaard et al., 2009).

Por ejemplo, Randermanana et al. (2019) muestra cómo la mayor densidad urbana y agrupación espacial en los centros urbanos, afectó la concentración de casos de “Peste Negra”, una enfermedad causada por *Y. pestis*, transmitida por pulgas de rata (Randermanana et al., 2019). En este estudio, los autores investigaron si, además de la variación en el tipo de desperdicio, los cambios en el comportamiento de las ratas debido a variaciones climáticas o ecológicas también podrían haber aumentado el riesgo de contagio de *Yersinia*. Por otro lado, las variaciones encontradas dentro de las ciudades se han relacionado con una mayor prevalencia

en áreas con edificios mixtos comerciales y residenciales, como se observó en un estudio de prevalencia de *Leptospira* spp. en Kuching, Malasia (Blasdell et al., 2019).

Al momento de elegir los ambientes urbanos, *R. rattus* prefiere hábitats con grandes volúmenes de vegetación y lugares altos para la construcción de sus madrigueras, como árboles junto a casas o techos de casas, a diferencia de *R. norvegicus* que prefiere los sistemas de drenaje y alcantarillado (Cox et al., 2000).

El factor socioeconómico influye como fuente alimentaria, haciendo que, en lugares con un menor poder adquisitivo, estas sean más abundantes; viéndose afectadas de manera desproporcionada por infestaciones de ratas en comparación con las áreas más ricas de una ciudad (Easterbrook et al., 2005; Omodu & Ati, 2010).

Dado que estos entornos (urbano y rural) ofrecen refugio, alimento y áreas de reproducción para roedores sinantrópicos, existe un aumento en la densidad de estas especies que pueden constituir un punto importante de enfermedades transmitidas por roedores (Dickman & Doncaster, 1987, Hassel et al., 2017). Una mayor abundancia y densidad de roedores favorece una mayor prevalencia y diversidad de parásitos y enfermedades, a su vez, una mayor frecuencia de infección en humanos (Parrish et al., 2008; Werden et al., 2014; Bordes et al., 2015).

## **6. Principales enfermedades zoonóticas transmitidas por roedores y vectores**

Se reconoce que los roedores hospedan muchas enfermedades zoonóticas, amenazantes para la salud humana, dichas enfermedades son causadas por virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoos (Meerburg et al., 2009; Luis et al., 2013; Chaisiri et al., 2015; Han et al., 2015). Ejemplos de agentes zoonóticos transmitidos por roedores y sus ectoparásitos incluyen bacterias como *Y. pestis*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira* spp., *Bartonella* spp., *Orientia tsutsugamushi*, entre otros (Loftis et al., 2006; Padovan, 2006; Labruna et al., 2007; Solís Hernández et al., 2016; Abarca et al., 2018). Entre los virus se encuentran los géneros *Hantavirus*, *Arenavirus* y *Poxvirus*. Por otro lado, entre los protistas destacan *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma* spp. y *Leishmania* spp. (Merburg et al., 2009). Estos patógenos se transmiten por una variedad de rutas: directamente por mordeduras, indirectamente de ambientes contaminados, como *Leptospira* y hantavirus y por artrópodos vectores, como pulgas que transmiten *Y. pestis*, algunas *Bartonella* spp. y *Trypanosoma lewisi*, triatomíneos que

transmiten *Trypanosoma cruzi* y garrapatas que transmiten *B. bugrdorferi*, *B. microti* y algunas *Bartonella* spp., o por mosquitos, que transmiten el virus de la encefalitis equina venezolana (Deardorff et al., 2011; Tsai et al., 2011; Milocco et al., 2013).

El constante contacto con seres humanos y las adaptaciones hechas durante el transcurso del tiempo en cuanto a las condiciones del entorno, hace que la probabilidad de transmisión de agentes patógenos hacia las personas sea más probable, independiente del grupo socioeconómico en el cual alguien se encuentre (Singleton et al., 1993; Moro et al., 1999; Han et al., 2015). Estas situaciones son provocadas por interacciones entre factores específicos del parásito: hospedador, inmunología, fisiología, distribución geográfica, así como características ambientales, que facilitan o impiden su desarrollo (Marshall, 1981; Krasnov, 2008; Linardi & Krasnov, 2013; Sánchez & Lareschi, 2018).

Debido a la gran diversidad de enfermedades que transmiten los roedores del género *Rattus*, llegan a ser capaces de afectar de gran manera la economía (Stenseth et al., 2003; Singleton et al., 2010; John, 2014) además de impactar la biodiversidad (Lowe et al., 2000; Wyatt et al., 2008).

Entre los patógenos más conocidos y estudiados transmitidos por ectoparásitos de roedores, se encuentra la bacteria *Y. pestis*, agente causal de la plaga “Peste negra” o “Peste bubónica”, transmitida principalmente por la pulga *Xenopsylla cheopis* y que, a través de la historia, provocó tres pandemias, dejando cerca de 200 millones de fallecidos (Prentice & Rahalison, 2007). En la actualidad, continúa siendo un problema cosmopolita importante en salud pública, produciendo anualmente epidemias en muchas partes del mundo, especialmente en África (Gage & Kosoy, 2005; Randremanana et al., 2019). Cabe mencionar otra enfermedad relevante transmitida por roedores, Hantavirus de Seúl que en humanos causa la fiebre hemorrágica y que se inició en los roedores asiáticos de la tribu Rattini, que tuvo repercusiones y se extendió a nivel global (Lin et al. 2012; Plyusnina et al. 2012). Por otro lado, la evidencia actual muestra que los ratones pueden ser portadores también del virus de la hepatitis E (HEV) en gran parte del mundo (Lack et al., 2012). Los anticuerpos HEV se descubrieron en ratas *R. norvegicus* y *R. rattus* en los Estados Unidos (Kabrane-Lazizi et al., 1999; Favorov et al., 2000; Purcell et al., 2011). En Japón, el HEV se detectó en el 32% de *R. norvegicus* y el 13% de *R. rattus*, los resultados sugirieron que HEV está circulando entre ratones rurales (Hirano et al., 2003). La detección de HEV en las heces de *R. norvegicus* también se descubrió en Alemania (Johne et al., 2012).

*Borrelia burgdorferi*, agente etiológico de la enfermedad de Lyme, una enfermedad de importancia mundial que ocasiona signos clínicos nerviosos graves ha sido identificada, mediante técnicas moleculares, en *R. rattus* (17,2%) y *M. musculus* (42,5%), capturados en los municipios rurales de Opichén y Tixméhuac, México (Solís-Hernández et al., 2016). Este hallazgo indica que los roedores podrían participar en el inicio de la propagación de esta bacteria entre los habitantes de la región, especialmente en comunidades rurales. Un ejemplo de esto sucedió en la isla de Madeira, Portugal, donde *Rattus* logró propagar la *Borreliosis* (Matuschka et al., 1994).

Los ratones y otros animales transmiten diferentes serovares de *Leptospira* (Mwachui et al., 2015). *Leptospira interrogans* y *Leptospira kirschneri* se encuentran entre las especies patógenas pertenecientes al género *Leptospira* que pueden causar leptospirosis (Torres-Castro et al., 2016a), presumiblemente la enfermedad con mayor importancia zoonótica a nivel mundial, endémica en la mayor parte del territorio nacional (Torres-Castro et al., 2016a). Muchos de los casos de leptospirosis reportados en humanos tienden a presentar síntomas leves o asintomáticos y en situaciones raras, progresan a trastornos pulmonares, hepáticos y/o renales con posibles riesgos de colapso cardiovascular (Bharti et al., 2003). En Europa, los casos de leptospirosis son estables (Dupouey et al., 2014). Desde el 2007 a 2015, se confirmaron entre 439 y 966 casos por año (ECDC, 2016). En Latinoamérica, *L. interrogans* y *L. kirschneri* fueron encontradas mediante técnicas moleculares en tejido renal de *R. rattus* y *M. musculus* capturados en una comunidad rural de Yucatán (Torres-Castro et al., 2014; Torres-Castro et al., 2016b).

En una investigación realizada en granjas de gallinas ponedoras en Japón se demostró la participación de *R. rattus* en la epidemiología de *Salmonella* (Lapuz et al., 2008). Un total de 113 (13,3%) y 158 (18,6%) de las 851 ratas examinadas fueron positivas para *S. enteritidis* y *S. infantilis*, respectivamente (Lapuz et al., 2008). *Salmonella typhimurium* enterica se aisló del contenido intestinal de *R. rattus* y *R. norvegicus* capturadas en la ciudad de Yokohama, Japón (Yokoyama et al., 2007). Un estudio experimental sobre la transmisión y contaminación de *Salmonella* en *R. rattus* infectadas de granjas en Japón encontró que las ratas silvestres pueden portar como transmitir *Salmonella* a través de sus heces (Umali et al. 2012).

Entre otros patógenos que son transmitidas por roedores, el *T. gondii* es un parásito de distribución cosmopolita, causante de la toxoplasmosis. En Yucatán, Mexico, *T. gondii* se ha reportado tanto en humanos como en animales domésticos y silvestres (Hernández-Cortazar et

al., 2015). Este parásito zoonótico ha sido identificado mediante técnicas moleculares en el tejido renal de *M. musculus* y *R. rattus* capturados en la comunidad de Molas, México (Torres-Castro, 2017). Una característica importante es la incapacidad de los roedores de excretar las etapas infecciosas de *T. gondii*, sin embargo, estos participan en el ciclo de transmisión al ser presas de gatos domésticos y silvestres, los cuales son hospedadores finales de *T. gondii* (Torres-Castro et al., 2016).

El potencial zoonótico de los roedores se ha evidenciado también con estudios que muestran la circulación de *Cysticercus fasciolaris*, estado larvario de *Taenia taeniaeformis* parasitando roedores sinantrópicos capturados en varias localidades de Yucatán (Rodríguez-Vivas et al., 2011; Panti-May et al., 2015b). Este parásito (*T. taeniaeformis*), no solo tiene la capacidad de afectar accidentalmente a los seres humanos, sino también a otros animales domésticos como gatos y perros, que viven en las cercanías de poblaciones humanas. La presencia de helmintos en roedores comunes ha sido demostrada como un riesgo significativo para la salud pública en investigaciones a nivel global (Hancke, 2016). Estudios adicionales han respaldado esta preocupación, incluyendo investigaciones en América del Norte, Europa y América del Sur. Estos trabajos han subrayado la importancia de comprender y controlar la fauna de helmintos en roedores comunales debido a su potencial impacto en la salud humana y la salud de los animales domésticos, como gatos y perros, que conviven en entornos urbanos (Riquelme, 2019; Gliga et al., 2020; Panti-May et al., 2021).

Otros helmintos como los Hymenolepididos son más frecuentes en humanos. Los roedores también son parte del reservorio de *Trichinella spiralis* y de *Echinococcus multilocularis*. Estos últimos son helmintos muy relevantes por la frecuencia en humanos como por la gravedad del cuadro clínico (Robinson & Dalton, 2009; Otranto & Eberhard, 2011).

Siguiendo el objetivo de esta revisión, la siguiente información se centrará y profundizará diferentes aspectos biológicos y etológicos de las siguientes bacterias: *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella*.

## **7. *Bartonella*, *Coxiella burnetii* y *Rickettsia* en todo el mundo**

### **7.1 *Bartonella***

*Bartonella* spp. son bacterias gran negativas intracelulares transmitidas por vectores que infectan una amplia gama de mamíferos. Entre ellos los roedores se describen como importantes

reservorios de *Bartonella* (Ying et al., 2002; Favacho et al., 2015; Gonçalves et al., 2016) y los ectoparásitos (Pulgas, ácaros, piojos) en diferentes partes del mundo serían los vectores (Mada et al., 2023).

*Bartonellae* se clasifican en el subgrupo alfa2 de la clase Alfabroteobacterias y se incluyen en la familia *Bartonellaceae*. Establecen un vínculo filogenético con el orden *Rickettsiales*, perteneciente al orden *Rhizobiales* (Brenner et al., 1993; Birtles & Raoult, 1996). El género *Bartonella* contiene más de 40 especies y subespecies, muchas de las cuales son capaces de producir enfermedades en humanos y tienen una amplia distribución geográfica (Tabla 3) (Billeter et al., 2012; Lopardo et al., 2016).

Estas bacterias son responsables de un gran grupo de enfermedades infecciosas emergentes o reemergentes, con manifestaciones clínicas que varían según el tipo de infección involucrada y la situación inmunológica del paciente (Blanco & Raoult, 2005). Las *Bartonellae* establecen infecciones a largo plazo a través de un aparente doble nicho (infectando eritrocitos y células endoteliales) en reservorios de mamíferos con una estrategia silenciosa que evita su rápida eliminación por parte del sistema inmunológico del hospedero (Harms & Dehio, 2012; Nuncio & Alves, 2014).

En el ciclo de *Bartonella*, las pulgas se consideran actores claves debido a que albergan una gran diversidad de especies y cepas de *Bartonella* y demuestran una gran eficacia en la transmisión de estas bacterias entre roedores (Brinkerhoff et al., 2010; Morick et al., 2013a). En consecuencia, se ha sugerido que las pulgas no solo sirven como vectores, sino que representan reservorios adicionales para estas bacterias (Birtles, 2005; Deng et al., 2012). Algunos estudios han demostrado que otros vectores artrópodos, como garrapatas, pulgas y piojos, también están implicados en la propagación de la enfermedad entre los seres humanos (Mosbacher et al., 2011).

Tabla 3. Especies de *Bartonella* asociadas o potencialmente asociadas a enfermedades en humanos, sus distribuciones y vectores.

Agente	Enfermedades	Distribución	Vectores *
<i>B. bacilliformis</i>	Enfermedad de Carrión	América del Sur	Flebotominos ( <i>Lutzomyia verrucarum</i> )

<i>B. rochalimaea</i>	Bacteremia, fiebre, lesiones cutáneas y esplenomegalia	Perú	Desconocido (posiblemente <i>L. verrucarum</i> )
<i>B. quintana</i>	Endocarditis, fiebre de trinchera, DAG, AB, peliosis hepático	América del Sur, Europa, Estados Unidos, África	Piojo humano ( <i>Pediculus humanus corporis</i> ), pulga de gato, pulga de jerbo, infección garrapata de <i>Ixodes pacificus</i>
<i>B. henselae</i>	DAG, manifestaciones oculares, encefalopatías, meningitis aséptica, hemiplejía aguda, demencia, síntomas psiquiátricos agudos, fiebre de etiología desconocida, abscesos hepatoesplénicos, bacteriemia asintomática, bacteriemia, osteomielitis, AB, peliosis hepática, eritema nudoso, otras lesiones cutáneas.	América del Sur, Europa, Estados Unidos, África	Pulga de gato ( <i>Ctenocephalides felis</i> ), garrapatas <i>Ixodes ricinus</i> , <i>I. pacificus</i> , <i>Rhipicephalus Sanguineus</i>
<i>B. elizabethae</i>	Endocarditis	Europa, Estados Unidos, Asia	Pulgas de rata (géneros <i>Rattus</i> y <i>Mus</i> ), pulgas de roedores salvajes

<i>B. clarridgeiae</i>	DAG, sepsis, endocarditis	Europa, Estados Unidos, Asia	Pulgas de gato ( <i>C. felis</i> ), pulgas de roedores, ectoparásitos de perro (?), ectoparásitos de zorro (?)
<i>B. clarridgeiae-like</i>	Fiebre y esplenomegalia	Perú	Desconocido
<i>B. koehlerae</i>	Endocarditis, DAG	EUA	Pulgas de gato y roedores
<i>B. vinsonii subs. berkhoffii</i>	Endocarditis, atrialgia / mialgia / dolor de cabeza / fatiga	Europa, Estados Unidos	<i>I. pacificus</i> garrapatas, garrapatas de coyote (?), ectoparásitos de zorro (?)
<i>B. washoensis</i>	Fiebre y miocarditis	Estados Unidos	<i>I. pacificus</i> garrapatas, ardillas
<i>B. tamiae</i>	Fiebre	Tailandia	Desconocido
<i>B. grahamii</i>	Neurorretinitis	Europa, Canadá, Asia	Pulgas de rata, pulgas de otros roedores salvajes (?)
<i>B. doshiae</i>	DAG	Europa	Pulgas de rata (géneros <i>Rattus</i> y <i>Mus</i> )
<i>B. taylorii</i>	Desconocido	Europa	Pulgas jerbos y ratas

<i>B. alsatica</i>	Desconocido	Europa	Desconocido
<i>B. bovis</i>	Desconocido	Europa, África, América del Norte	Garrapatas

\* La transmisión de *Bartonella* spp. no se ha demostrado experimentalmente en humanos a través de garrapatas; DAG: enfermedad por arañazo de gato, AB: angiomatosis bacilar. (Adaptado y extraído de: Lamas et al., 2008).

Se sugiere que la infección se produce a través de las heces de pulgas que contienen bacterias, y no por inoculación cuando consumen sangre (Foil et al., 1998; Finkelstein et al., 2002). El humano, además de poder adquirir la infección desde especies silvestres, también podría adquirir estas bacterias por el contacto estrecho con especies domésticas, como los gatos, ya que estos pueden ser reservorio de *B. henselae*, *B. clarridgeiae* y *B. koehlerae* (Barnafi et al., 2017; Núñez et al., 2017; Armitano et al., 2018). Por otra parte, en perros se ha registrado a *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii*, *B. henselae*, *B. clarridgeiae*, *B. washoensis*, *B. elizabethae* y *B. quintana* (Chomel et al., 2006).

Los roedores se describen como importantes reservorios de *Bartonella* (Ying et al., 2002; Favacho et al., 2015; Gonçalves et al., 2016; Kosoy et al., 2012; Frank et al., 2018). Las ratas silvestres son los reservorios de *B. grahamii*, *B. taylorii* y *B. doshiae* (Heller et al., 1998).

Se incluyen como agentes causantes de las manifestaciones clínicas humanas como la enfermedad de Carrión (*Bartonella bacilliformis*), en su fase febril (fiebre de Oroya) y tisular (verruga peruana), fiebre de trinchera (*B. quintana*), enfermedad por arañazo de gato (*B. henselae*) y angiomatosis bacilar (*B. henselae* y *B. quintana*). Se ha informado que el piojo del cuerpo humano, *Pediculus humanus*, es el vector predominante responsable de la transmisión de la fiebre de las trincheras causada por *B. quintana* (Foucault et al., 2006). Las infecciones causadas por *B. bacilliformis* ocurren por la picadura de la hembra del mosquito *Lutzomyia* y son endémicas de Perú, Colombia y Ecuador, mientras que se han reportado casos esporádicos en Chile, Guatemala y Bolivia (Sanchez et al., 2012). Las bacterias febriles recurrentes, la endocarditis, la septicemia, las manifestaciones neurológicas, psiquiátricas, oftalmológicas, óseas y hematológicas también están asociadas con la infección por estos agentes (Kerkhoff et al., 1999; Welch et al., 1999; Kosoy et al., 2003; Fenollar et al., 2005; Eremeeva et al., 2007;

Probert et al., 2009; Oksi et al., 2013). Estas infecciones son más prevalentes en la población de personas sin hogar, las que estarían más expuestas al patógeno ya que aumentan la probabilidad de contagio al realizar actividades al aire libre (Brouqui et al., 2005; Kosoy et al., 2008, 2010; Ying et al., 2012).

Debido a las migraciones y los cambios en los hábitats humanos, los riesgos de enfermedad revelan cómo se manifiestan los patrones actuales de enfermedad. Tanto los roedores como los animales domésticos son fuentes de reservorios. Se ha encontrado evidencia actual de casos de *Bartonella* en animales domésticos y vida silvestre (Frank et al., 2018). En las regiones de América Central y América del Sur se encontró una alta prevalencia de *Bartonella* (67%) (Becker et al., 2018).

## 7.2 *Coxiella burnetii*

*Coxiella burnetii* es una bacteria zoonótica formadora de esporas intracelulares obligatoria (cocobacillus), que produce la enfermedad llamada Fiebre Q y puede variar desde seroconversión asintomática hasta casos febriles fatales en humanos (Schneeberger et al., 2014). El género *Coxiella* pertenece al orden Legionellales, familia Coxiellaceae, formando parte del grupo Gamma Proteobacteria (Weisburg et al., 1989; Stein & Raoult, 1992; Seshadri et al., 2003).

La principal vía de transmisión de infecciones en el ser humano es a través de aerosoles, el contacto directo con animales infectados o con sus productos como leche, orina, heces o placenta, siendo esta última donde el microorganismo alcanza mayor concentración. Sus esporas aerosolizadas son altamente resistentes a la desecación y a la luz y pueden llegar a grandes distancias (Fariñas & Collado, 2010; Muñoz-Sanz et al., 2007; Ruiz -Fons et al., 2010; Chitanga et al., 2018).

La fiebre Q ha sido tradicionalmente una enfermedad de exposición ocupacional, especialmente entre agricultores, veterinarios y trabajadores de mataderos y su eliminación ocurre en los fluidos placentarios y amnióticos de rumiantes (Madariaga et al., 2003; Whitney et al., 2009; de Rooij et al., 2012). La transmisión de persona a persona es rara, sin embargo, puede ocurrir en trabajadores que están expuestos al agente frente a personas infectadas, como asistentes durante autopsias o infecciones en trabajadores de hospitales a través del contacto directo con el paciente (Angelakis & Raoult, 2010).

La fiebre Q ha provocado y sigue produciendo grandes brotes en muchas partes del mundo. Francia, España y Estados Unidos se consideran áreas endémicas, con casos esporádicos que ocurren, generalmente después de actividades consideradas en riesgo, como la agricultura y el sacrificio en matadero (Eldin et al., 2017). Entre 2007 y 2010 se presentaron los mayores brotes a nivel mundial en los Países Bajos con 4.026 casos humanos confirmados. En Holanda, se analizó el genoma y se identificó la cepa de cabra *Coxiella burnetii* NL3262, además de una especie de cepa humana crónica con características similares al mismo genotipo de análisis multilocus relacionado con el brote (Kuley et al., 2016). También se encontró seropositividad en pequeños rumiantes en estudios realizados en Portugal, en las Islas Canarias y Pakistán (Tejedor-Junco et al., 2016; Shabbir et al., 2016). Muestras como moco vaginal y leche de ganado vacuno y ovino fueron sometidas a PCR en los Estados Unidos, encontrando el ADN de *C. burnetii* (Bauer et al., 2016).

Se han publicado muchos estudios sobre la presencia y propagación de la infección por *C. burnetii* en la vida silvestre, donde más de 40 especies de garrapatas se han encontrado infectadas de forma natural por la bacteria *C. burnetii* (Mantovani & Benazzi, 1953; Acha & Szyfres, 2003; Kazar, 2005). Los géneros *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma* y *Dermacentor* se consideran los de mayor importancia en la transmisión vectorial a animales (Parola & Raoult, 2001). Al menos siete especies de garrapatas duras y blandas, incluida *Dermacentor andersoni*, han sido vectores formalmente competentes de *C. burnetii* (Duron et al., 2015). Pacheco et al. (2013) presentaron en un estudio de caso la confirmación de la infección natural por *C. burnetii* en *Amblyomma* spp. En un estudio experimental reciente, Körner et al. (2020) demostraron que las garrapatas duras europeas *Ixodes ricinus* y *Dermacentor marginatus* pueden infectarse después de ingerir sangre infectada y posteriormente excretar *C. burnetii* en las heces. Sin embargo, *C. burnetii* no se detectó en la sangre utilizada para alimentar especímenes infectados de *I. ricinus* y *D. marginatus*. Esto sugiere en particular que la transmisión por garrapatas puede ocurrir al inhalar o ingerir heces que contienen *C. burnetii*, en lugar de picaduras de garrapatas (Körner et al., 2020).

*Coxiella burnetii* también es transmitida por otros artrópodos, como chinches, moscas y ácaros. Experimentalmente, los piojos y las pulgas también son susceptibles a la infección (Mantovani & Benazzi, 1953; Acha & Szyfres, 2003; Babudieri & Suzzi-Valli, 1951; Eldin et al., 2017; Varela-Castro et al., 2018; Zanatto, 2019).

En los animales, hay pocas manifestaciones patológicas asociadas con la infección por *C. burnetii*. La infección es subclínica, es decir, detectada por casualidad en abortos o malformaciones fetales, principalmente en cabras y ovejas (Vaidya et al., 2010; Agerholm, 2013). Además, también pueden ocurrir placentitis, metritis, partos prematuros, partos de animales débiles, mortinatos e infertilidad materna, involucrando también la presencia de bacterias en órganos como el bazo, hígado y pulmón (Palmer et al., 1983). Sánchez et al. (2006), demostraron que los abortos causados por *C. burnetii* en rumiantes son más comunes en las especies de cabras y ovejas que en las de bovinos. Las cabras infectadas experimentalmente con *C. burnetii* mostraron un 100% de abortos al final de la gestación.

En el humano, la infección por *C. burnetii* es en la mayoría de los casos poco evidente, un síndrome seudogripal, neumonía atípica o hepatitis; puede considerarse autolimitante y pasar desapercibida pero también puede derivar en complicaciones en la fase aguda de la enfermedad y progresar a una fase crónica, que ocurre en el 2% de los casos, pudiendo manifestarse como endocarditis, síndrome febril prolongado, meningoencefalitis, polineurorradiculitis, artritis, entre otras (Raoult et al., 2005; Parker et al., 2006; Betancur & Velez, 2006; Betancur & Munera, 2012; Bloju et al., 2011). En la fase crónica afecta principalmente al sistema cardiovascular (Acha & Szyfres, 2003). La endocarditis es el síntoma más común que, si no se trata, puede provocar la muerte (Siciliano et al., 2008).

Un estudio realizado en Zambia, detectó *C. burnetii* en perros domésticos y roedores que se encontraban en contacto con humanos (Chitanga et al., 2018). En Jordania, se llevó a cabo un estudio transversal de seroprevalencia y asociación de factores de riesgo de *Coxiella*, hallando una prevalencia de 24,2% de *C. burnetii* en la población analizada, asociada al consumo de leche cruda y ser propietario de ovejas, cabras y perros (Obaidat et al., 2019). Otro estudio serológico realizado en Tailandia encontró que el 12,6% de las muestras humanas analizada (661/83) fueron positivas (Doung-Ngern et al., 2017).

### 7.3 *Rickettsiae*

Otra enfermedad zoonótica importante transmitida por roedores son las rickettsiosis o enfermedades rickettsiales causadas por bacterias patógenas del género *Rickettsia* y *Orientia*, pertenecientes a la familia Rickettsiaceae y transmitidas por artrópodos vectores (Renvoisé et al., 2009). *Rickettsia felis* y *R. typhi*, son agentes etiológicos zoonóticos transmitidos por pulgas que infestan, entre otros animales, roedores, aves, gatos y, eventualmente, seres humanos. Estas bacterias se han detectado en muchas partes del mundo. En *M. musculus* y *R. rattus* ha sido

detectada mediante técnicas de diagnóstico molecular y serológico (Panti-May et al., 2015; Peniche-Lara et al., 2015) y en el municipio de Bolmay se informó que en los meses de mayo y junio del 2010 hubo un brote severo en seres humanos, desarrollando una endemidad del patógeno (se refiere a la propagación gradual y sostenida de la presencia del patógeno en la población, lo que puede llevar a que la enfermedad se vuelva endémica en la región) (Ortiz - Martínez, 2016).

Las rickettsias son bacterias gramnegativas intracelulares obligatorias responsables de varias enfermedades conocidas como rickettsiosis, que desencadenan la fiebre manchada o maculosa y el tifus murino (Gillespie et al., 2008). A lo largo de los años, las rickettsias han sufrido varias reorganizaciones taxonómicas y según las revisiones realizadas sobre la taxonomía del grupo, el orden Rickettsiales incluye la familia Anaplasmataceae y la familia Rickettsiaceae, y esta última incluye dos géneros: *Rickettsia* y *Orientia* (Dumler et al., 2001).

El género *Rickettsia* está compuesto por dos grandes grupos: grupo tifus (GT) y grupo fiebre maculosa (GFM) (Shpynov et al., 2018). Las rickettsias del GT, que incluye a *R. typhi*, agente del tifus endémico o tifus murino transmitido por pulgas y *R. prowazekii*, que causa el tifus epidémico transmitido por piojos, que se distribuye ampliamente en todo el mundo; el GFM incluye especies transmitidas por garrapatas duras, como *Rickettsia conorii*, el agente causante de la fiebre maculosa del Mediterráneo (Raoult et al., 1986) y *R. rickettsii*, comúnmente llamada fiebre manchada de las montañas rocosas o fiebre maculosa brasileña, es la rickettsiosis humana transmitida por garrapatas más patogénica del mundo y ocurre en las Américas (Venza & Nava, 2011; Abarca & Oteo, 2014). Existen citas de esta *Rickettsia* en Argentina, Brasil, Canadá, Colombia, Costa Rica, Estados Unidos, México y Panamá, con casos fatales en varios de estos países (Dumler & Walker, 2005; Zinsser, 1935; Ereemeeva & Dasch, 2000; Bechah et al., 2008; Labruna, 2009). Por último, el grupo que contiene *O. tsutsugamushi*, el agente etiológico del tifus de los matorrales (Merhej et al., 2014), exhibe características fenotípicas y moleculares únicas y fue reclasificada como *Orientia tsutsugamushi* (Tamura et al., 1995, Abarca et al., 2018). El análisis de la secuencia completa del genoma sugirió la existencia de otro grupo dentro del género *Rickettsia*, llamado grupo de transición, que consiste en *R. felis* y *R. akari* (Gillespie et al., 2007), pero este grupo no es ampliamente aceptado (Merhej et al., 2011, Shpynov et al., 2015).

Hasta principios del presente siglo, solo nueve especies de rickettsias en el GFM se consideraban patógenas para el humano. La fiebre maculosa causada por *R. felis*, ha sido

reportada en varios países, descrita por primera vez en Brasil en 1929, en São Paulo y, poco después, se informó en Río de Janeiro y Minas Gerais (Días & Martins, 1939), siendo identificada por PCR en *Ctenocephalides* sp. por Oliveira et al. (2002), en Tailandia por Parola et al. (2003), en Alemania por Richter et al. (2002) y México por Zavala-Velázquez et al. (2000). El agente se encontró simultáneamente en pulgas en los EE. UU. (Adams et al., 1990; Higgins et al., 1994), México (Zavala-Velazquez et al., 2002), Brasil (Horta et al., 2005), Perú (Blair et al., 2004), Uruguay (Venzal et al., 2006), España (Márquez et al., 2002), Nueva Zelanda (Kelly et al., 2004) y Gabón (Rolain et al., 2005).

Con el advenimiento de las técnicas moleculares, son reconocidas más de 30 especies, entre las cuales al menos 15 causan diferentes enfermedades al ser humano (*Rickettsia africae*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia aeschlimannii*, *Rickettsia honei*, *Rickettsia japonica*, *Rickettsia marmionii*, *Rickettsia mongolotimonae*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia slovaca*). Con la excepción de *R. akari* y *R. felis*, transmitidas respectivamente por pequeños ácaros y pulgas (principalmente por la pulga del gato *C. felis*), todos los demás representantes de este grupo son portados por garrapatas (Bernabeu-Wittel & Segura-Porta, 2005). Si bien existen datos sobre la detección de *R. felis* vía PCR en garrapatas (Cardoso et al., 2006), aún no existe evidencia científica en la literatura de la transmisión de esta especie a humanos a través de garrapatas (Brouqui et al., 2004; Lopez -Velez et al., 2015; Mediannikov et al., 2015; Raoult & Roux, 1997; Raoult et al., 2002; Sekeyová et al., 2001).

Como se mencionó anteriormente, estas bacterias son transmitidas por vectores artrópodos, como garrapatas, ácaros, piojos, pulgas y también se ha demostrado la transmisión por aerosoles (Fleta Zaragoza, 2002; Abarca & Oteo, 2014). Los roedores, tanto silvestres como sinantrópicos, son hospedadores comunes de estos artrópodos, especialmente durante sus etapas adultas, convirtiéndose así en potenciales reservorios de bacterias del género *Rickettsia* (Gillespie et al., 2008; Schroeder et al., 2015; Walker, 2009; Thu et al., 2019; Kondethimmanahalli et al., 2019). Estas enfermedades se vuelven epidémicas en las poblaciones humanas, solo cuando hay una disminución en la población de los hospedadores naturales, haciendo que los vectores busquen otras fuentes de alimento, convirtiendo al humano en un hospedador accidental (Azad et al., 1997).

Las rickettsias se multiplican en el punto de contacto con el artrópodo y suelen producir una lesión local. Penetran la piel o las membranas mucosas y se multiplican en las células

endoteliales de los vasos sanguíneos pequeños provocando vasculitis. Las características patogénicas de la enfermedad pueden provocar inflamación / disfunción vascular e incluso alteración de estas funciones. Hablando concretamente del tifus murino, los brotes suelen producirse en orden epidémico, especialmente en aglomeraciones ambientales en espacios cerrados que carecen de una higiene adecuada, lo que favorece la propagación de la enfermedad (Schroeder et al., 2017).

Las pulgas pueden actuar como vectores de varias especies de *Rickettsiae*. En *Leptopsylla segnis*, especie común en ratas, se han detectado hasta siete especies de *Rickettsia* teniendo como la de mayor prevalencia a *R. typhi* (Loftis et al., 2006; Labruna et al., 2007). *Rickettsia typhi* se transmite principalmente por *X. cheopis*, pero también por otras especies de pulgas y artrópodos vectores (Christou et al., 2010; Peniche-Lara et al., 2015). En *Echidnophaga gallinacea*, pulga asociada a aves que también ha sido reportada en ratas, se ha aislado *Rickettsia* sp. la cual no ha podido ser identificada (Bowman, 2011).

*Rickettsia prowazekii*, transmitida por el piojo del cuerpo (*Pediculus humanus corporis*), es el agente causal del tifus epidémico. Este microorganismo, similar al tifus en sus características a nivel epidémico, puede provocar la enfermedad en los seres humanos (Newton et al., 2022). Además del piojo del cuerpo, otro vector frecuente es *C. felis*, una pulga que se asocia comúnmente a animales de compañía, humanos y ratas. La presencia de ADN de *R. prowazekii* en pulgas no confirma necesariamente su capacidad para transmitir eficazmente la enfermedad y se requieren investigaciones adicionales para determinar la capacidad real de transmisión de *Rickettsia* sp. por parte de las pulgas, como *C. felis* (Massung et al., 2011).

Se pueden observar garrapatas pertenecientes a diferentes géneros infectadas naturalmente por rickettsias del GFM (*Amblyomma* spp., *Dermacentor* spp., *Haemaphysalis* spp., *Hyalomma* spp., *Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp.) en diferentes partes del mundo (Parola et al., 2013). La bacteria puede transmitirse en cualquier forma evolutiva de la garrapata, ya sean larvas, ninfas o adultos, a través de picaduras. Esta transmisión se realiza a través de la garrapata que se adhiere a la piel y come durante 4 a 6 horas (Barros-silva et al., 2014).

El agente *R. felis* se asoció con casos clínicos de fiebre manchada en pacientes en Texas (EUA), inicialmente sospechados de haber contraído tifus murino (Schriefer et al., 1994). Aunque la enfermedad en humanos causada por *R. felis* es clínicamente similar a la causada por *R. rickettsii*, se sospecha que el primer agente puede ser menos virulento (Brown & Macaluso, 2016; Legendre & Macaluso, 2017). Clásicamente, *R. rickettsii* ha sido reconocida, desde

principios del siglo pasado, como responsable de la alta letalidad de los casos clínicos en humanos no tratados (Dias & Martins, 1939; Zavala-Velázquez et al., 2000).

Tabla 4- Rickettsiosis humana documentada en el hemisferio occidental.

Agente	Enfermedad	Artrópodos	Distribución	Hospedadores vertebrados
<i>R. rickettsii</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, fiebre maculosa brasileña	Garrapatas: <i>Dermacentor variabilis</i> , <i>D. andersoni</i> , <i>Amblyomma cajennense</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , <i>Haemaphysalis leporispalustris</i> , <i>Amblyomma aureolatum</i> , <i>Amblyomma mixtum</i> , <i>Amblyomma sculptum</i>	Estados Unidos, México, Canadá, Panamá, Colombia, Argentina, Brasil	Desconocido
<i>R. akari</i>	Riquettsial pox	Ácaros: <i>Liponyssoides sanguineus</i>	Estados Unidos	Ratones: <i>Mus musculus</i>
<i>R. felix</i>	Fiebre maculosa transmitida por picadura de pulga	Pulgas: <i>Ctenocephalis felis</i>	Estados Unidos, México, Brasil, Perú	Desconocido
<i>R. parkeri</i>	Fiebre africana transmitida por picadura de garrapata	Garrapatas: <i>Amblyomma maculatum</i> , <i>A. americanum</i> , <i>A. dubitatum</i> , <i>A. variegatum</i> , <i>Amblyomma ovale</i> , <i>Amblyomma tigrinum</i> , <i>Amblyomma triste</i> .	Estados Unidos, Brasil (Rio Grande do Sul), Uruguay	Desconocido
<i>R. prowazii</i>	Tifus transmitido por piojos	Piojos: <i>Pediculus humanus corporis</i> y <i>Neohaematopinus sciuropteri</i> . Pulgas: <i>Orchopeas howardii</i>	Estados Unidos, Perú	Humanos y ardillas voladoras: <i>Glaucomys volans</i>
<i>R. typhi</i>	Tifus murino	Pulgas: <i>Xenopsylla cheopis</i> , <i>C. felis</i> y otras pulgas y piojos	Estados Unidos, probablemente muchos países de América del Sur y el Caribe central	<i>Rattus</i> sp. y <i>Didelphis</i> sp.

Fuente: Walker, 2004 (CONSULTA de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas).

En relación con la migración y la globalización, muchas regiones pueden manifestar altas tasas de incidencia de infecciones por rickettsias con manifestaciones clínicas en el sistema nervioso central (Preto & Gerais-Brasil, 2004; Quintero et al., 2012). Sin embargo, el diagnóstico ha sido bastante desafiante debido a que su manifestación clínica se presenta de forma inespecífica (Sekeyová et al., 2019). Las pruebas serológicas son la base principal para el desenlace del diagnóstico (Abdad et al., 2018). En las regiones de Asia y el Pacífico, la enfermedad puede causar insuficiencia orgánica múltiple con una tasa de letalidad de hasta el 70% sin un tratamiento específico y a menudo se descuida en áreas endémicas (Xu et al., 2017). En Turquía, debido al calentamiento global, los cambios ambientales y ecológicos, el aumento de garrapatas da como resultado la aparición y reemergencia de estas enfermedades zoonóticas (Inci et al., 2016).

La siguiente tabla muestra los principales síntomas y la distribución de la enfermedad en algunas regiones a través de la literatura actual.

Tabla 5 - Descripción de principales patógenos transmitidos por vectores y su distribución geográfica.

Rickettsiales				
Especies	Síntomas	Transmisión / situación	Región	Autor
<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Insuficiencia multiorgánica grave	Zonas endémicas	Asia Pacífico	Xu et al., 2017
<i>Orientia tsutsugamushi</i> , <i>Rickettsia</i> spp.	Número de enfermedades infecciosas nuevas y emergentes	Mascotas y humanos	Asia	Robinson et al., 2019
<i>Candidatus Rickettsia vini</i>	fiebre	Transmitida por garrapatas <i>Rickettsia vini</i> n. sp. (Rickettsiaceae)	Turquía	Inci et al., 2016
<i>Rickettsia</i> spp., <i>Anaplasma</i> , <i>Ehrlichia</i> , y genes TSA56 de <i>Orientia tsutsugamushi</i> .	pruebas serológicas y análisis genéticos	Pequeños mamíferos y garrapatas	Provincias de Jiangsu y Jiangxi, China	Lu et al., 2019
<i>Rickettsia rickettsii</i>	enfermedad grave y con riesgo de vida	Transmitida por garrapatas	México	Pieracci et al., 2019

Un estudio realizado en el norte de México analizó el resurgimiento de *R. rickettsii*, una bacteria que supone un grave riesgo para la vida de personas y animales. Se encontró que el 69% de los perros analizados presentaron anticuerpos contra el grupo de rickettsias con fiebre maculosa, reportándose la mayor seroprevalencia en Baja California (12%), Coahuila (4%) y Sonora (4%). La estimación de la seroprevalencia en la población canina es importante, ya que contribuye significativamente a las campañas de salud pública con el fin de realizar intervenciones para reducir los casos de esta enfermedad en humanos (Pieracci et al., 2019). La diversidad y apariencia de la infección por rickettsias en humanos y animales se analizó en un estudio en las provincias de Jiangsu y Jiangxi, China (LU et al., 2019). Se recolectaron muestras de 134 pacientes con síntomas febriles, 173 roedores y 43 musarañas, así como 358 garrapatas. Los resultados del estudio mostraron que la prevalencia de la infección por rickettsia en humanos y animales era alta (valores) en ambas provincias y que la especie de rickettsia identificada con mayor frecuencia era *Rickettsia japonica*. Además, se encontró que la infección por rickettsia en humanos y animales estaba relacionada con la presencia de garrapatas, lo que sugiere que las garrapatas son un vector importante de transmisión de enfermedades en la región estudiada (Lu et al., 2019).

## **8. Roedores como hospedadores de ectoparásitos vectores de enfermedades/bacterias en Chile.**

Como se mencionó anteriormente, los roedores son reconocidos como hospedadores de una variedad de enfermedades zoonóticas causadas por virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoos (Han et al., 2015). Entre estos patógenos, aquellos transmitidos por artrópodos hematófagos han recibido una atención significativa en la investigación científica. Estudios como los de Meerburg et al. (2009), Luis et al. (2013), Chaisiri et al. (2015) y Han et al. (2015) han contribuido notablemente a este campo, enfocándose en estos patógenos específicos.

Entre los ectoparásitos más importantes se encuentran las pulgas, por ejemplo *X. cheopis*, además de transmitir *Y. pestis*, puede actuar como vector de varias especies de *Bartonella* y *Rickettsia* (Legendre & Macaluso, 2017). *Leptosylla segnis*, *E. gallinacea*, *C. felis*, potencialmente puede transmitir *Bartonella* spp., *Rickettsia* sp. y *Coxiella* sp. (Loftis et al., 2006; Labruna et al., 2007). Todas las especies de pulgas mencionadas están presentes en Chile en *R. rattus* (Moreno et al. 2019), además de otras 12 especies de pulgas que *R. rattus* ha adquirido desde los roedores silvestres con los que entra en contacto, principalmente en áreas

rurales y silvestres (Beaucournu et al., 2014). De estas especies de pulgas, en 10 se ha detectado la presencia de ADN de *Bartonella* spp., siendo *L. segnis* la que presenta mayor prevalencia de la bacteria (Moreno et al., 2019). En Chile, se ha detectado la presencia de *Bartonella* spp. en el 18% de las pulgas extraídas de roedores silvestres, y *Rickettsia* spp. en el 13,6% de estas pulgas (Moreno et al., 2019). Las especies de roedores que albergaron mayor número de pulgas infectadas fueron *Abrothrix olivacea* para *Bartonella* spp. y *A. olivacea* y *Abrothrix hirta* para *Rickettsia* spp. (Lizama, 2019; Miranda, 2017). Estas especies de roedores son muy abundantes en ambientes silvestres y rurales, pero también son capaces de colonizar ambientes urbanos (Monteverde & Hadora, 2017).

Entre los ácaros presentes en roedores, representantes de las familias Laelapidae, Macronyssidae y Trombiculidae son importantes vectores de enfermedades. En Chile, se han reportado dos especies de ácaros con importancia en salud pública: *Laelaps echidninus* (Mesostigmata: Laelapidae) en *R. rattus* y *R. norvegicus*, y *Ornithonyssus bacoti* (Mesostigmata: Macronyssidae) en *R. rattus* y en *M. musculus* (Barriga & Donckaster, 1965; Silva-de la Fuente, 2014; Seguel et al., 2017). *Laelaps echidninus*, en otras partes del mundo ha sido reconocido como vector de *Hepatozoon muris* y el virus de Junin (Lareschi & González-Acuña, 2010), no obstante, en Chile, no hay estudios que validen la presencia de dichos patógenos. Mientras que, *Ornithonyssus* es reconocido por ser potencial vector biológico de enfermedades a animales silvestres, domésticos y humanos (Radovsky, 1994), dentro de los que destacan las bacterias: *Bartonella* sp., *Borrelia burgdorferi*, *Borrelia recurrentis*, *C. burnetti*, *R. akari*, *R. prowasekii*, *Y. pestis*; virus: Hantavirus, Virus coxsackie, Virus de la encefalitis de San Luis, Virus Langat, Virus de la encefalitis equina del oeste; Protozoos: *Trypanosoma cruzi*, *Hepatozoon* sp. y el nemátodo *Litomosoides carinii* (Choi et al., 2007; Jofré et al., 2009). En Chile, este ácaro se ha asociado a casos de dermatitis (Barriga & Donckaster, 1965; Jofré et al., 2009) y se detectó *Bartonella* sp. en *Ornithonyssus* spp. colectados de roedores silvestres (Silva de la Fuente, 2019). Por otra parte, ácaros trombicúlidos, comúnmente llamados “chigger mites”, parasitan frecuentemente roedores silvestres, pero también se encuentran en roedores sinantrópicos introducidos (Huang et al., 2017). En Chile, el tifus de los matorrales, causado por *Orientia tsutsugamushi* y transmitido por larvas de ácaros trombicúlidos de roedores silvestres, es una rickettsiosis endémica en Asia-Pacífico. Después del primer caso identificado en Chile en 2006, en 2015 se identificaron más de 30 casos (Abarca et al., 2018). Esta bacteria fue recientemente reportada en habitantes del sur de Chile, en la isla de Chiloé y en áreas continentales en las regiones de Aysén (Caleta

Tortel y P.N. Queulat) y del Bío-Bío (Alto Biobío) (Weitzel et al., 2019). Además, se ha encontrado *Orientia* en sueros de perros (Weitzel et al., 2018).

Las últimas investigaciones en Chile sugieren que los ácaros trombicúlidos del género *Herpetacarus* sp. podrían actuar como vectores biológicos del tifus de los matorrales (Acosta-Jamett et al., 2020). El estudio de Acosta-Jamett et al. (2020) respalda esta idea, mientras que investigaciones más recientes, como el trabajo de Weitzel et al. (2022), identifican a *Herpetacarus* sp. como un posible vector de la enfermedad. Además, otros estudios, sugieren la participación de diversas especies de ácaros trombicúlidos como posibles reservorios o vectores del tifus de los matorrales en Chile (Silva de la Fuente et al., 2023).

En Chile, los registros indican la presencia de dos especies de piojos que parasitan ratas: *Hoplopleura pacifica* en *R. norvegicus* y *Poliplax spinulosa* en *R. norvegicus* y *R. rattus* (Durden & Musser, 1994; González-Acuña et al., 2005). Sin embargo, aún no existen estudios específicos que investiguen los patógenos asociados a estos piojos en Chile, ni tampoco en piojos de roedores silvestres en el país.

A nivel global, se ha documentado que los piojos, como *P. spinulosa*, parásitos de *R. rattus* y *R. norvegicus*, han estado implicados en el mantenimiento de *R. typhi* dentro de comunidades de roedores (Durden & Page, 1991). Aunque es difícil para los piojos parasitar a los humanos, se ha observado que estos pueden mantener y transportar bacterias a otros roedores, favoreciendo su transmisión a los humanos a través de otros artrópodos chupadores de sangre que pican a las personas (Durden & Page, 1991; Chakma et al., 2015). Otros microorganismos identificados en piojos son *Mycoplasma* sp. y *Bartonella phoceensis* en *P. spinulosa* (Hornok et al., 2015; Tsai et al., 2010) y *Bartonella* spp. en *Polyplax* spp. y *Hoplopleura* spp. aislados de *R. rattus* (Klangthong et al., 2015; Brook et al., 2017). A pesar de estos hallazgos globales, es crucial remarcar la falta de investigaciones sobre patógenos asociados específicamente a los piojos en roedores en Chile, lo que limita nuestra comprensión de los posibles riesgos para la salud pública en el país.

Para garrapatas, de las 27 especies de garrapatas que se han registrado en Chile (Guglielmone et al., 2004; Nava et al., 2017; Muñoz-Leal et al., 2020), cinco especies parasitan a roedores, y dos de ellas se han encontrado en ratas introducidas: *R. sanguineus* en *R. norvegicus* e *Ixodes sigelos* en *R. norvegicus* y *R. rattus* (Osorio, 2001; González-Acuña et al., 2004). En *M. musculus* no existen registros de garrapatas en Chile. *Rhipicephalus sanguineus* es importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que transmite enfermedades tanto a perros (por

ejemplo, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma platys*), como a humanos (por ejemplo, *R. conorii*, *R. massiliae* y *R. rickettsii*; Dantas-Torres, 2008; Dantas-Torres et al., 2012; Nava et al., 2017). En Chile, se detectaron en *R. sanguineus* colectados de perros las bacterias *E. canis*, *A. platys* y *R. felis* (Abarca et al., 2007; Lopez et al., 2012; Abarca et al., 2013). En garrapatas recolectadas de roedores silvestres en Chile, se identificó *Borrelia chilensis* en *I. sigelos*, la que se encuentra dentro del complejo *B. burgdorferi* sl. (Osorio, 2001). Esta *Borrelia* fue descrita en Chile a partir de *I. stilesi*, extraída de *O. longicaudatus* y *Pudu puda*, desconociéndose su importancia patogénica (Ivanova et al., 2014; Verdugo et al., 2017). *Ixodes* spp. también pueden ser vectores potenciales de *Orientia*, ya que el ADN de esta bacteria fue detectado en *Ixodes* extraídos de roedores sinantrópicos en China (Zhang et al., 2013).

## 9. Conclusión

Las especies sinantrópicas comensales (*R. norvegicus*, *R. rattus* y *M. musculus*), son particularmente importantes porque tienen una distribución cosmopolita. Aunque existe bastante literatura sobre las bacterias patógenas que utilizan como reservorios a los roedores sinantrópicos en varias partes del mundo (Easterbrook et al., 2007, Hsieh et al., 2010, Psaroulaki et al., 2010, Abramowicz et al., 2012), no ocurre lo mismo sobre la presencia de estas bacterias en ectoparásitos, y en muy pocos existe la certeza de que son vectores competentes de las bacterias mencionadas (Hornok et al., 2015). La logística que implica la captura de roedores sinantrópicos, más compleja que la de roedores silvestres, puede ser la causa de la escasez de estudios (Parson et al., 2017; Himsworth et al., 2014). El modo de transmisión y los vectores / reservorios en varias especies de patógenos y los factores que determinan la presencia de estos patógenos en diferentes áreas geográficas aún no están claros. también existe evidencia de infección de ectoparásitos de fauna silvestre a sinantrópica y viceversa, lo que podría afectar a la dinámica de transmisión de los patógenos que se estudian, si no se tienen en cuenta estas especies silvestres. Teniendo en cuenta que existen diferencias en la prevalencia de patógenos en ectoparásitos asociados con diferentes factores, se necesita más investigación para comprender mejor la ecología de estos patógenos en ectoparásitos y sus implicaciones para la salud humana.

Los antecedentes presentados a lo largo de esta revisión bibliográfica muestran que es fundamental mejorar nuestro conocimiento sobre las bacterias potencialmente transmitidas por ectoparásitos en relación con la ecología de roedores sinantrópicos, ya que esta está determinada

por factores importantes para la persistencia y transmisión de parásitos zoonóticos. Esta información es esencial para desarrollar estrategias apropiadas de vigilancia e intervención. Sin embargo, es igualmente importante saber qué patógenos están presentes o ausentes para evitar gastar recursos en programas dirigidos a patógenos que no representan un riesgo para la salud en ese lugar específico.

Por otra parte, Chile se encuentra actualmente entre los tres países que lideran la tasa de urbanización en América Latina, con el 89,9% de la población viviendo en áreas urbanas, mientras que el porcentaje de la población que vive en áreas rurales disminuyó de 16,6% en 1992 a 12,3 en 2017 (INE, 2017). Esta alta tasa de urbanización provoca cambios en el paisaje urbano y rural, lo que podría producir cambios en la dinámica de las poblaciones hospedadoras y vectores de enfermedades. Es de absoluta necesidad conocer estos patógenos, ya que es indispensable a fin de prevenir la transmisión de sus enfermedades al humano.

La identificación microbiológica clásica enfrenta importantes desafíos, uno de los cuales es la falta de medios de cultivo específicos para cada bacteria. Esta limitación en el aislamiento e identificación de microorganismos crea un vacío en nuestro conocimiento. Nuevas técnicas moleculares, como la secuenciación, tienen el potencial de resolver este problema y contribuir a diferentes áreas ecológicas. Estas técnicas permiten el establecimiento preciso de haplotipos y proporcionan una gran cantidad de datos que pueden utilizarse para desarrollar herramientas de control más precisas y efectivas.

## Referencias

- Abarca, K., & Oteo, J. A. (2014). Aproximación clínica y principales rickettsiosis transmitidas por garrapatas presentes en Latinoamérica. *Revista chilena de infectología*, 31(5), 569-576.
- Abarca, K., López, J., Acosta-Jamett, G., & Martínez-Valdebenito, C. (2013). *Rickettsia felis* in *Rhipicephalus sanguineus* from two distant Chilean cities. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(8), 607-609.
- Abarca, K., López, J., Perret, C., Guerrero, J., Godoy, P., Veloz, A., & Azócar, T. (2007). *Anaplasma platys* in dogs, Chile. *Emerging infectious diseases*, 13(9), 1392.
- Abarca, K., Martínez-Valdebenito, C., Angulo, J., Jiang, J., Farris, C. M., Richards, A. L., & Weitzel, T. (2020). Molecular description of a novel *Orientia* species causing scrub typhus in Chile. *Emerging infectious diseases*, 26(9), 2148.
- Abarca, K., Weitzel, T., Martínez-Valdebenito, C., & Acosta-Jamett, G. (2018). Tifus de los matorrales, una enfermedad emergente en Chile. *Revista chilena de infectología*, 35(6), 696-699.
- Abdad, M. Y., Abou Abdallah, R., Fournier, P. E., Stenos, J., & Vasoo, S. (2018). A concise review of the epidemiology and diagnostics of rickettsioses: *Rickettsia* and *Orientia* spp. *Journal of clinical microbiology*, 56(8), 10-1128.
- Abdelkrim, J., Pascal, M., Calmet, C., & Samadi, S. (2005). Importance of assessing population genetic structure before eradication of invasive species: examples from insular Norway rat populations. *Conservation Biology*, 19(5), 1509-1518.
- Abramowicz, K. F., Wekesa, J. W., Nwadike, C. N., Zambrano, M. L., Karpathy, S. E., Cecil, D., & Eremeeva, M. E. (2012). *Rickettsia felis* in cat fleas, *Ctenocephalides felis* parasitizing opossums, San Bernardino County, California. *Medical and veterinary entomology*, 26(4), 458-462.
- Acha, P. N., & Szyfres, B. (2003). Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Vol. I. Bacterioses and mycoses. Scientific and Technical Publication No. 580. *Pan American Health Organization, Regional Office of the WHO, Washington, USA*, 384, 392.
- Agerholm, J. S. (2013). *Coxiella burnetii* associated reproductive disorders in domestic animals-a critical review. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 1-11.

- Angelakis, E., & Raoult, D. (2010). Q fever. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 297-309.
- Aplin, K. P., Suzuki, H., Chinen, A. A., Chesser, R. T., Ten Have, J., Donnellan, S. C., ... & Cooper, A. (2011). Multiple geographic origins of commensalism and complex dispersal history of black rats. *PloS one*, 6(11), e26357.
- Armitano, R., Lisa, A., Martínez, C., Cipolla, L., Iachini, R., & Prieto, M. (2018). *Bartonella henselae*: evidencia serológica en pacientes pediátricos con sospecha clínica de enfermedad por arañazo de gato. *Revista argentina de microbiología*, 50(4), 365-368.
- Arnal Martín, S. (2021). Modelización de patrones de distribución espacial de la rata negra en Madrid: estudio de su predicción y los factores de riesgo urbanos. *Docta Complutense*.
- Arvand, M., Raoult, D., & Feil, E. J. (2010). Multi-locus sequence typing of a geographically and temporally diverse sample of the highly clonal human pathogen *Bartonella quintana*. *PloS one*, 5(3), e9765.
- Azad, A. F., Radulovic, S., Higgins, J. A., Noden, B. H., & Troyer, J. M. (1997). Flea-borne rickettsioses: ecologic considerations. *Emerging infectious diseases*, 3(3), 319.
- Babudieri, B., & Suzzi-Valli, E. (1951). Study and research on several outbreaks of Q fever in the Republic of San Marino. *Rendiconti-Istituto superiore di sanita*, 14(6), 430-459.
- Baig, M., Khan, S., Eager, H., Atkulwar, A., & Searle, J. B. (2019). Phylogeography of the black rat *Rattus rattus* in India and the implications for its dispersal history in Eurasia. *Biological Invasions*, 21(2), 417-433.
- Barnafi, N., Conca, N., Von Borries, C., Fuentes, I., Montoya, F., & Alcalde, E. (2017). Infección por *Bartonella henselae* con compromiso de sistema nervioso central, asociado a un papiloma del plexo coroideo. *Revista chilena de infectología*, 34(4), 383-388.
- Barnett, S. A., & Spencer, M. M. (1951). Feeding, social behaviour and interspecific competition in wild rats. *Behaviour*, 229-242.
- Barriga, O. O., & Donckaster, R. (1965). Human Dermatitis by *Liponyssus bacoti*. First Cases Reported in Chile. *Boletin Chileno de Parasitologia*, 20(3), 76-8.
- Barros-Silva, P. M. R., Pereira, S. V. C., Fonseca, L. X., Maniglia, F. V. P., de Oliveira, S. V., & de Caldas, E. P. (2014). Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. *Scientia Plena*, 10(4 (a)).

- Bauer, A. E., Hubbard, K. R., Johnson, A. J., Messick, J. B., Weng, H. Y., & Pogranichniy, R. M. (2016). A cross sectional study evaluating the prevalence of *Coxiella burnetii*, potential risk factors for infection, and agreement between diagnostic methods in goats in Indiana. *Preventive veterinary medicine*, *126*, 131-137.
- Becker, D. J., Bergner, L. M., Bentz, A. B., Orton, R. J., Altizer, S., & Streicker, D. G. (2018). Genetic diversity, infection prevalence, and possible transmission routes of *Bartonella* spp. in vampire bats. *PLoS neglected tropical diseases*, *12*(9), e0006786.
- Benavides, F. J., & Guénet, J. L. (2003). Manual de genética de roedores de laboratorio. *Principios básicos y aplicaciones*, 38.
- Berdoy, M., & Drickamer, L. C. (2007). Comparative social organization and life history of *Rattus* and *Mus*. *Rodent societies: an ecological and evolutionary perspective*, 380-392.
- Berdoy, M., Webster, J. P., & Macdonald, D. W. (1995). Parasite-altered behaviour: is the effect of *Toxoplasma gondii* on *Rattus norvegicus* specific? *Parasitology*, *111*(4), 403-409.
- Bernabeu-Wittel, M., & Segura-Porta, F. (2005). Enfermedades producidas por *Rickettsia*. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, *23*(3), 163-172.
- Berry, R. J. (1970). The natural history of the house mouse. *Field Study*, *3*, 219-262.
- Betancur, C. A., & Múnera, A. G. (2012). Endocarditis por *Coxiella burnetii*: fiebre Q. *Acta Médica Colombiana*, *37*(1), 31-33.
- Betancur, C. A., & Velez, L. (2006). Características clínicas de la neumonía adquirida en la comunidad asociada a bacterias atípicas y virus respiratorios (NAC atípica), Valle de Aburrá 2005-2006. *Acta Médica Colombiana*, *31*, 326-7.
- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., ... & Vinetz, J. M. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet infectious diseases*, *3*(12), 757-771.
- Bhide, M. R., Curlik, J., Travnicek, M., & Lazar, P. (2004). Protein A/G dependent ELISA a promising diagnostic tool in Lyme disease seroprevalence in game animals and hunting dogs. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, *27*(3), 191-199.
- Billeter, S. A., Hayman, D. T. S., Peel, A. J., Baker, K., Wood, J. L. N., Cunningham, A., ... & Kosoy, M. Y. (2012). *Bartonella* species in bat flies (Diptera: Nycteribiidae) from western Africa. *Parasitology*, *139*(3), 324-329.

- Birtles, R. J. (2005). Bartonellae as elegant hemotropic parasites. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1063(1), 270-279.
- Birtles, R. J., & Raoult, D. (1996). Comparison of partial citrate synthase gene (*gltA*) sequences for phylogenetic analysis of *Bartonella* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 46(4), 891-897.
- Blair, P. J., Jiang, J., Schoeler, G. B., Moron, C., Anaya, E., Cespedes, M., ... & Olson, J. G. (2004). Characterization of spotted fever group rickettsiae in flea and tick specimens from northern Peru. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4961-4967.
- Blanco, J. R., & Raoult, D. (2005). Diseases produced by *Bartonella*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(5), 313-9.
- Blasdell, K. R., Morand, S., Perera, D., & Firth, C. (2019). Association of rodent-borne *Leptospira* spp. with urban environments in Malaysian Borneo. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(2), e0007141.
- Bloju, A., Urea, R. B., García, M. E., Cerrada, E. C., & Benito, E. R. (2011). Fiebre Q, a propósito de tres formas de presentación. *FMC: Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, 18(9), 552-556.
- Bonnefoy, X., Kampen, H., & Sweeney, K. (2008). *Public health significance of urban pests*. World Health Organization.
- Bordes, F., Blasdell, K., & Morand, S. (2015). Transmission ecology of rodent-borne diseases: new frontiers. *Integrative zoology*, 10(5), 424-435.
- Borroto-Páez, R., & de Zoología, S. C. (2013). Nidos y refugios de ratas negras (*Rattus rattus*) en Cuba (Mammalia, Rodentia). *Solenodon*, 11, 109-119.
- Bowman, D. D. (2011). Introduction to the alpha-proteobacteria: *Wolbachia* and *Bartonella*, *Rickettsia*, *Brucella*, *Ehrlichia*, and *Anaplasma*. *Topics in companion animal medicine*, 26(4), 173-177.
- Bradley, C. A., & Altizer, S. (2007). Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 95-102.
- Breitschwerdt, E. B., Maggi, R. G., Quach, C., & Bradley, J. M. (2019). *Bartonella* spp. bloodstream infection in a Canadian family. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 19(4), 234-241.

- Brinkerhoff, R. J., Kabeya, H., Inoue, K., Bai, Y., & Maruyama, S. (2010). Detection of multiple *Bartonella* species in digestive and reproductive tissues of fleas collected from sympatric mammals. *The ISME journal*, 4(7), 955-958.
- Brouqui, P., Bacellar, F., Baranton, G., Birtles, R. J., Bjoersdorff, A., Blanco, J. R., ... & Wilske, B. (2004). Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clinical microbiology and infection*, 10(12), 1108-1132.
- Brouqui, P., Stein, A., Dupont, H. T., Gallian, P., Badiaga, S., Rolain, J. M., ... & Raoult, D. (2005). Ectoparasitism and vector-borne diseases in 930 homeless people from Marseilles. *Medicine*, 84(1), 61-68.
- Brown, L. D., & Macaluso, K. R. (2016). *Rickettsia felis*, an emerging flea-borne rickettsiosis. *Current Tropical Medicine Reports*, 3, 27-39.
- Buckle, A., & Smith, R. (Eds.). (2015). *Rodent pests and their control*. CABI.
- Cardoso, L. D., Freitas, R. N., Mafra, C. L., Neves, C. V. B., Figueira, F. C. B., Labruna, M. B., & Galvão, M. A. M. (2006). Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 22, 495-501.
- Cavia, R., Cueto, G. R., & Suárez, O. V. (2009). Changes in rodent communities according to the landscape structure in an urban ecosystem. *Landscape and Urban Planning*, 90(1-2), 11-19.
- Chaisiri, K., Siribat, P., Ribas, A., & Morand, S. (2015). Potentially zoonotic helminthiasis of murid rodents from the Indo-Chinese peninsula: impact of habitat and the risk of human infection. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15(1), 73-85.
- Chakma, S., Picard, J., Duffy, R., Constantinoiu, C., & Gummow, B. (2017). A survey of zoonotic pathogens carried by non-indigenous rodents at the interface of the Wet Tropics of North Queensland, Australia. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(1), 185-193.
- Cheylan, G. (1984). Les mammifères des îles de Provence et de méditerranée occidentale: un exemple de peuplement insulaire non équilibré? *Revue d'Ecologie, Terre et Vie*, 39(1), 37-54.
- Childs, J. E., McLafferty, S. L., Sadek, R., Miller, G. L., Khan, A. S., DuPree, E. R., ... & Glass, G. E. (1998). Epidemiology of rodent bites and prediction of rat infestation in New York City. *American journal of epidemiology*, 148(1), 78-87.

- Chin, V. K., Lee, T. Y., Lim, W. F., Ywy, W. S., Syafinaz, A. N., Zamberi, S., & Maha, A. (2018). Leptospirosis in human: Biomarkers in host immune responses. *Microbiological research*, 207, 108-115.
- Chitanga, S., Simulundu, E., Simuunza, M. C., Changula, K., Qiu, Y., Kajihara, M., ... & Hang'ombe, B. M. (2018). First molecular detection and genetic characterization of *Coxiella burnetii* in Zambian dogs and rodents. *Parasites & vectors*, 11(1), 1-4.
- Chomel, B. B., Boulouis, H. J., Maruyama, S., & Breitschwerdt, E. B. (2006). *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. *Emerging infectious diseases*, 12(3), 389.
- Christou, C., Psaroulaki, A., Antoniou, M., Toumazos, P., Ioannou, I., Mazeris, A., ... & Tselentis, Y. (2010). *Rickettsia typhi* and *Rickettsia felis* in *Xenopsylla cheopis* and *Leptopsylla segnis* parasitizing rats in Cyprus. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 83(6), 1301.
- Clapperton, B. K., Maddigan, F., Chinn, W., & Murphy, E. C. (2019). Diet, population structure and breeding of *Rattus rattus* L. in South Island beech forest. *New Zealand Journal of Ecology*, 43(2), 1-8.
- Colo, G., Sagawa, H., Fracasso, S., & Bortignon, P. F. (2007). Spin-orbit splitting and the tensor component of the Skyrme interaction. *Physics Letters B*, 646(5-6), 227-231.
- Combs, M., Byers, K., Himsforth, C., & Munshi-South, J. (2019). Harnessing population genetics for pest management: Theory and application for urban rats. *Human-Wildlife Interactions*, 13(2), 11.
- Costa, F., Hagan, J. E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P., Martinez-Silveira, M. S., ... & Ko, A. I. (2015). Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(9), e0003898.
- Cox, M. P., & Cox, C. R. D. A. W. G. (2000). Use of habitat by the black rat (*Rattus rattus*) at North Head, New South Wales: an observational and experimental study. *Austral Ecology*, 25(4), 375-385.
- Davis, D. E. (1949). The weight of wild brown rats at sexual maturity. *Journal of Mammalogy*, 30(2), 125-130.
- Davis, D. E. (1951). A comparison of reproductive potential of two rat populations. *Ecology*, 32(3), 469-475.

- Davis, D. E. (1953). The characteristics of rat populations. *The quarterly review of Biology*, 28(4), 373-401.
- Davis, D. E., & Christian, J. J. (1956). Changes in Norway rat populations induced by introduction of rats. *The Journal of Wildlife Management*, 20(4), 378-383.
- Davis, D. E., Emlen, J. T., & Stokes, A. W. (1948). Studies on home range in the brown rat. *Journal of Mammalogy*, 29(3), 207-225.
- de Rooij, M. M., Schimmer, B., Versteeg, B., Schneeberger, P., Berends, B. R., Heederik, D., & Wouters, I. M. (2012). Risk factors of *Coxiella burnetii* (Q fever) seropositivity in veterinary medicine students. *PLoS One*, 7(2), e32108.
- Deardorff, E. R., Estrada-Franco, J. G., Freier, J. E., Navarro-Lopez, R., Da Rosa, A. T., Tesh, R. B., & Weaver, S. C. (2011). Candidate vectors and rodent hosts of Venezuelan equine encephalitis virus, Chiapas, 2006–2007. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 85(6), 1146.
- Deng, H., Le Rhun, D., Buffet, J. P. R., Cotté, V., Read, A., Birtles, R. J., & Vayssier-Taussat, M. (2012). Strategies of exploitation of mammalian reservoirs by *Bartonella* species. *Veterinary research*, 43, 1-14.
- Dias, E., & Martins, A. V. (1939). Spotted fever in Brazil: a summary. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 1(2), 103-108.
- Dickman, C. R., & Doncaster, C. P. (1987). The ecology of small mammals in urban habitats. I. Populations in a patchy environment. *The journal of animal ecology*, 629-640.
- Doung-Ngern, P., Chuxnum, T., Pangjai, D., Opaschaitat, P., Kittiwat, N., Rodtian, P., ... & Padungtod, P. (2017). Seroprevalence of *Coxiella burnetii* antibodies among ruminants and occupationally exposed people in Thailand, 2012–2013. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 96(4), 786.
- Drake, D. R., & Hunt, T. L. (2009). Invasive rodents on islands: integrating historical and contemporary ecology. *Biological invasions*, 11, 1483-1487.
- Dupouey, J., Faucher, B., Edouard, S., Richet, H., Kodjo, A., Drancourt, M., & Davoust, B. (2014). Human leptospirosis: an emerging risk in Europe?. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 37(2), 77-83.

- Durden, L. A., & Page, B. F. (1991). Ectoparasites of commensal rodents in Sulawesi Utara, Indonesia, with notes on species of medical importance. *Medical and Veterinary Entomology*, 5(1), 1-7.
- Durden, L.A. & Musser, G.G. (1994). The Sucking Lice (Insecta: Anoplura) of the World: A Taxonomic Checklist with Records of Mammalian Host and Geographical Distributions. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 218.
- Duron, O., Sidi-Boumedine, K., Rousset, E., Moutailler, S., & Jourdain, E. (2015). The importance of ticks in Q fever transmission: what has (and has not) been demonstrated? *Trends in parasitology*, 31(11), 536-552.
- Easterbrook, J. D., Shields, T., Klein, S. L., & Glass, G. E. (2005). Norway rat population in Baltimore, Maryland, 2004. *Vector-Borne & Zoonotic Diseases*, 5(3), 296-299.
- Eldin, C., Mélenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S., ... & Raoult, D. (2017). From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clinical microbiology reviews*, 30(1), 115-190.
- Eremeeva, M. E. & Dasch, G. A. (2000). Rickettsiae. In: Lederberg, J. (Ed.). *Encyclopedia of microbiology*. New York: Academic Press, v. 4, p.140-180.
- Eremeeva, M. E., Gerns, H. L., Lydy, S. L., Goo, J. S., Ryan, E. T., Mathew, S. S., ... & Koehler, J. E. (2007). Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. *New England Journal of Medicine*, 356(23), 2381-2387.
- Faeth, S. H., Warren, P. S., Shochat, E., & Marussich, W. A. (2005). Trophic dynamics in urban communities. *BioScience*, 55(5), 399-407.
- Fariñas, M. T. F., & Collado, C. M. (2010). Infección por *Coxiella burnetii* (fiebre Q). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 29-32.
- Favorov, M. O., Kosoy, M. Y., Tsarev, S. A., Childs, J. E., & Margolis, H. S. (2000). Prevalence of antibody to hepatitis E virus among rodents in the United States. *The Journal of infectious diseases*, 181(2), 449-455.
- Feliciano, B. R., dos Santos Fernandez, F. A., de Freitas, D., & Figueiredo, M. D. S. L. (2002). Population dynamics of small rodents in a grassland between fragments of Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Mammalian Biology*, 67(5), 304-314.

- Feng, A. Y., & Himsforth, C. G. (2014). The secret life of the city rat: a review of the ecology of urban Norway and black rats (*Rattus norvegicus* and *Rattus rattus*). *Urban Ecosystems*, *17*, 149-162.
- Fenollar, F., Fournier, P. E., & Raoult, D. (2004). Molecular detection of *Coxiella burnetii* in the sera of patients with Q fever endocarditis or vascular infection. *Journal of clinical microbiology*, *42*(11), 4919-4924.
- Fenollar, F., Sire, S., & Raoult, D. (2005). *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis* as an agent of blood culture-negative endocarditis in a human. *Journal of clinical microbiology*, *43*(2), 945-947.
- Fitte, B. (2019). *Parasitosis de riesgo sanitario en roedores sinantrópicos: una problemática emergente de la urbanización actual* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Fleta Zaragozano, J. (2002). Rickettsiosis transmitidas por piojos, pulgas y ácaros. *Medicina integral (Ed. impr)*, 147-152.
- Foucault, C., Brouqui, P., & Raoult, D. (2006). *Bartonella quintana* characteristics and clinical management. *Emerging infectious diseases*, *12*(2), 217.
- Frank, H. K., Boyd, S. D., & Hadly, E. A. (2018). Global fingerprint of humans on the distribution of *Bartonella* bacteria in mammals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *12*(11), e0006865.
- Frantz, S. C., & Comings, J. P. (1976). Evaluation of urban rodent infestations-An approach in Nepal. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 7, No. 7).
- Gage, K. L., & Kosoy, M. Y. (2005). Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. *Annual Review of Entomology*, *50*, 505-528.
- Galbraith, J. A., Beggs, J. R., Jones, D. N., & Stanley, M. C. (2015). Supplementary feeding restructures urban bird communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(20), E2648-E2657.
- Gardner-Santana, L. C., Norris, D. E., Fornadel, C. M., Hinson, E. R., Klein, S. L., & Glass, G. E. (2009). Commensal ecology, urban landscapes, and their influence on the genetic characteristics of city-dwelling Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Molecular ecology*, *18*(13), 2766-2778.

- Gillespie, J. J., Williams, K., Shukla, M., Snyder, E. E., Nordberg, E. K., Ceraul, S. M., ... & Sobral, B. S. (2008). *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PloS one*, 3(4), e2018.
- Glass, G. E., Childs, J. E., Korch, G. W., & LeDuc, J. W. (1988). Association of intraspecific wounding with hantaviral infection in wild rats (*Rattus norvegicus*). *Epidemiology & Infection*, 101(2), 459-472.
- Goeijenbier, M., Wagenaar, J., Goris, M., Martina, B., Henttonen, H., Vaheri, A., ... & Van Gorp, E. (2013). Rodent-borne hemorrhagic fevers: under-recognized, widely spread and preventable—epidemiology, diagnostics and treatment. *Critical reviews in microbiology*, 39(1), 26-42.
- González-Acuña, D., Venzal, J. M., & Guglielmone, A. A. (2004). Nuevos hospedadores y localidades de *Ixodes sigelos* e *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) en Chile. *Gayana (Concepción)*, 68(1), 108-111.
- González-Acuña, D., & Guglielmone, A. A. (2005). Ticks (acari: ixodoidea: argasidae, ixodidae) of Chile. *Experimental & applied acarology*, 35, 147-163.
- Granjon, L., & Cheylan, G. (1989). Le sort de rats noirs (*Rattus rattus*) introduits sur une île, révélé par radio-tracking. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de Paris*, 571-575.
- Gravinatti, M. L., Barbosa, C. M., Soares, R. M., & Gregori, F. (2020). Synanthropic rodents as virus reservoirs and transmitters. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53.
- Greaves, P., & Boiziau, J. L. (1984). Altered patterns of mucin secretion in gastric hyperplasia in mice. *Veterinary Pathology*, 21(2), 224-228.
- Grzimek, B. F. (2003). Aufsichtsrecht und Vertragsgestaltung. *Outsourcing in Banken: Mit zahlreichen aktuellen Beispielen*, 131-152.
- Guglielmone, A. A., Estrada-Peña, A., Keirans, J., & Robbins, R. G. (2004). Las garrapatas (Acari: Ixodida) de la región zoogeográfica neotropical. *Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 142.
- Halliday, J. E., Knobel, D. L., Allan, K. J., Bronsvoort, B. M. D. C., Handel, I., Agwanda, B., ... & Breiman, R. F. (2013). Urban leptospirosis in Africa: a cross-sectional survey of *Leptospira* infection in rodents in the Kibera urban settlement, Nairobi, Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 89(6), 1095.

- Han, B. A., Schmidt, J. P., Bowden, S. E., & Drake, J. M. (2015). Rodent reservoirs of future zoonotic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(22), 7039-7044.
- Hancke, D. (2016). *La comunidad de helmintos en roedores sinantrópicos de la Ciudad de Buenos Aires: su relación con los ensambles de especies hospedadoras y su importancia zoonótica* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).
- Harms, A., & Dehio, C. (2012). Intruders below the radar: molecular pathogenesis of *Bartonella* spp. *Clinical microbiology reviews*, *25*(1), 42-78.
- Hernández-Cortazar, I., Acosta-Viana, K. Y., Ortega-Pacheco, A., Guzman-Marin, E. D. S., Aguilar-Caballero, A. J., & Jimenez-Coello, M. (2015). Toxoplasmosis in Mexico: epidemiological situation in humans and animals. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, *57*, 93-103.
- Higgins, J. A., Sacci Jr, J. B., Schriefer, M. E., Endris, R. G., & Azad, A. F. (1994). Molecular identification of rickettsia-like microorganisms associated with colonized cat fleas (*Ctenocephalides felis*). *Insect Molecular Biology*, *3*(1), 27-33.
- Himsworth, C. G., Jardine, C. M., Parsons, K. L., Feng, A. Y., & Patrick, D. M. (2014). The characteristics of wild rat (*Rattus* spp.) populations from an inner-city neighborhood with a focus on factors critical to the understanding of rat-associated zoonoses. *PloS one*, *9*(3), e91654.
- Himsworth, C. G., Parsons, K. L., Jardine, C., & Patrick, D. M. (2013). Rats, cities, people, and pathogens: a systematic review and narrative synthesis of literature regarding the ecology of rat-associated zoonoses in urban centers. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *13*(6), 349-359.
- Hirano, M., Ding, X., Li, T. C., Takeda, N., Kawabata, H., Koizumi, N., ... & Abe, K. (2003). Evidence for widespread infection of hepatitis E virus among wild rats in Japan. *Hepatology Research*, *27*(1), 1-5.
- Hornok, S., Földvári, G., Rigó, K., Meli, M. L., Gönczi, E., Répási, A., ... & Hofmann-Lehmann, R. (2015). Synanthropic rodents and their ectoparasites as carriers of a novel haemoplasma and vector-borne, zoonotic pathogens indoors. *Parasites & vectors*, *8*(1), 1-6.
- Horta, M. C., Pinter, A., Cortez, A., Soares, R. M., Gennari, S. M., Schumaker, T. T. S., & Labruna, M. B. (2005). *Rickettsia felis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Ctenocephalides felis*

felis (Siphonaptera: Pulicidae) in the State of São Paulo, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57, 321-325.

Iannucci, A., Natali, C., Capizzi, D., Sinibaldi, I., Sposimo, P., Ciofi, C., & Fratini, S. (2019). First record of VKORC1 sequence mutation associated with resistance to anticoagulant rodenticides in Italian individuals of *Mus musculus domesticus*. *Hystrix*, 30(2), 183.

Inci, A., Yildirim, A., Duzlu, O., Doganay, M., & Aksoy, S. (2016). Tick-borne diseases in Turkey: A review based on one health perspective. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(12), e0005021.

Inglis, I. R., Shepherd, D. S., Smith, P., Haynes, P. J., Bull, D. S., Cowan, D. P., & Whitehead, D. (1996). Foraging behaviour of wild rats (*Rattus norvegicus*) towards new foods and bait containers. *Applied Animal Behaviour Science*, 47(3-4), 175-190.

John, A. (2014). Rodent outbreaks and rice pre-harvest losses in Southeast Asia. *Food Security*, 6, 249-260.

Johne, R., Dremsek, P., Kindler, E., Schielke, A., Plenge-Bönig, A., Gregersen, H., ... & Ulrich, R. G. (2012). Rat hepatitis E virus: geographical clustering within Germany and serological detection in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Infection, genetics and evolution*, 12(5), 947-956.

Kabrane-Lazizi, Y., Fine, J. B., Elm, J., Glass, G. E., Higa, H., Diwan, A., ... & Purcell, R. H. (1999). Evidence for widespread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 61(2), 331-335.

Kazar, J. (2005). *Coxiella burnetii* infection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1063(1), 105-114.

Kelly, P. J., Meads, N., Theobald, A., Fournier, P. E., & Raoult, D. (2004). *Rickettsia felis*, *Bartonella henselae*, and *B. clarridgeiae*, New Zealand. *Emerging Infectious Diseases*, 10(6), 967-968.

Kerkhoff, F. T., Bergmans, A. M. C., van Der Zee, A., & Rothova, A. J. C. M. (1999). Demonstration of *Bartonella grahamii* DNA in ocular fluids of a patient with neuroretinitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(12), 4034-4038.

Kondethimmanahalli, C., Liu, H., & Ganta, R. R. (2019). Proteome analysis revealed changes in protein expression patterns caused by mutations in *Ehrlichia chaffeensis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 58.

- Körner, S., Makert, G. R., Mertens-Scholz, K., Henning, K., Pfeffer, M., Starke, A., ... & Ulbert, S. (2020). Uptake and fecal excretion of *Coxiella burnetii* by *Ixodes ricinus* and *Dermacentor marginatus* ticks. *Parasites & vectors*, *13*(1), 1-11.
- Kosoy, M. Y., Regnery, R. L., Kosaya, O. I., Jones, D. C., Marston, E. L., & Childs, J. E. (1998). Isolation of *Bartonella* spp. from embryos and neonates of naturally infected rodents. *Journal of Wildlife Diseases*, *34*(2), 305-309.
- Kosoy, M., Bai, Y., Sheff, K., Morway, C., Baggett, H., Maloney, S. A., ... & Peruski, L. F. (2010). Identification of *Bartonella* infections in febrile human patients from Thailand and their potential animal reservoirs. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *82*(6), 1140.
- Kosoy, M., Hayman, D. T., & Chan, K. S. (2012). Bartonella bacteria in nature: where does population variability end and a species start?. *Infection, Genetics and Evolution*, *12*(5), 894-904.
- Kosoy, M., Khlyap, L., Cosson, J. F., & Morand, S. (2015). Aboriginal and invasive rats of genus *Rattus* as hosts of infectious agents. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *15*(1), 3-12.
- Kosoy, M., Morway, C., Sheff, K. W., Bai, Y., Colborn, J., Chalcraft, L., ... & Petersen, L. R. (2008). *Bartonella tamiae* sp. nov., a newly recognized pathogen isolated from three human patients from Thailand. *Journal of clinical microbiology*, *46*(2), 772-775.
- Kosoy, M., Murray, M., Gilmore Jr, R. D., Bai, Y., & Gage, K. L. (2003). *Bartonella* strains from ground squirrels are identical to *Bartonella washoensis* isolated from a human patient. *Journal of Clinical Microbiology*, *41*(2), 645-650.
- Krasnov, B. R. (2008). *Functional and Evolutionary Ecology of Fleas: a model for ecological parasitology*. Cambridge University Press.
- Kuley, R., Smith, H. E., Janse, I., Harders, F. L., Baas, F., Schijlen, E., ... & Bossers, A. (2016). First complete genome sequence of the Dutch veterinary *Coxiella burnetii* strain NL3262, originating from the largest global Q fever outbreak, and draft genome sequence of its epidemiologically linked chronic human isolate NLhu3345937. *Genome announcements*, *4*(2), 10-1128.
- Labruna, M. B. (2009). Ecology of rickettsia in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1166*(1), 156-166.

- Labruna, M. B., Horta, M. C., Aguiar, D. M., Cavalcante, G. T., Pinter, A., Gennari, S. M., & Camargo, L. M. A. (2007). Prevalence of Rickettsia infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro municipality, western Amazon, Brazil. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 7(2), 249-255.
- Lack, J. B., Volk, K., & Van Den Bussche, R. A. (2012). Hepatitis E virus genotype 3 in wild rats, United States. *Emerging infectious diseases*, 18(8), 1268.
- Lai, O., Ho, D., Glick, S., & Jagdeo, J. (2016). Bed bugs and possible transmission of human pathogens: a systematic review. *Archives of dermatological research*, 308, 531-538.
- Lamas, C., Curi, A., Bóia, M. N., & Lemos, E. R. S. (2008). Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil—a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103, 221-235.
- Lanzafame, F., & Quartesan, A. (2009). Pobreza en áreas centrales urbanas. *Manual de consulta para profesiones: Banco Interamericano de Desarrollo*.
- Lapuz, R., Tani, H., Sasai, K., Shiota, K., Katoh, H., & Baba, E. (2008). The role of roof rats (*Rattus rattus*) in the spread of *Salmonella Enteritidis* and *S. Infantis* contamination in layer farms in eastern Japan. *Epidemiology & Infection*, 136(9), 1235-1243.
- Legendre, K. P., & Macaluso, K. R. (2017). *Rickettsia felis*: A review of transmission mechanisms of an emerging pathogen. *Tropical medicine and infectious disease*, 2(4), 64.
- Lima, M., Ernest, S. M., Brown, J. H., Belgrano, A., & Stenseth, N. C. (2008). Chihuahuan Desert kangaroo rats: nonlinear effects of population dynamics, competition, and rainfall. *Ecology*, 89(9), 2594-2603.
- Lin, X. D., Guo, W. P., Wang, W., Zou, Y., Hao, Z. Y., Zhou, D. J., ... & Zhang, Y. Z. (2012). Migration of Norway rats resulted in the worldwide distribution of Seoul hantavirus today. *Journal of virology*, 86(2), 972-981.
- Linardi, P. M., & Krasnov, B. R. (2013). Patterns of diversity and abundance of fleas and mites in the Neotropics: host-related, parasite-related and environment-related factors. *Medical and Veterinary Entomology*, 27(1), 49-58.
- Liu, G., Wang, H., Cheng, Y., Zheng, B., & Lu, Z. (2016). The impact of rural out-migration on arable land use intensity: Evidence from mountain areas in Guangdong, China. *Land Use Policy*, 59, 569-579.

- Liu, Y., Liu, Y., Chen, Y., & Long, H. (2010). The process and driving forces of rural hollowing in China under rapid urbanization. *Journal of Geographical Sciences*, 20, 876-888.
- Lopardo, H. A., Predari, S. C., & Vay, C. (2016). Manual de microbiología clínica de la asociación argentina de microbiología. Volumen I. Bacterias de importancia clínica. 429p.
- Lopez-Velez, R., Palomar, A. M., Oteo, J. A., Norman, F. F., Pérez-Molina, J. A., & Portillo, A. (2015). Novel *Candidatus rickettsia* species detected in nostril tick from human, Gabon, 2014. *Emerging infectious diseases*, 21(2), 325.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2000). 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database (Vol. 12). Auckland: Invasive Species Specialist Group.
- Lu, M., Li, F., Liao, Y., Shen, J. J., Xu, J. M., Chen, Y. Z., ... & Zhang, Y. Z. (2019). Epidemiology and diversity of Rickettsiales bacteria in humans and animals in Jiangsu and Jiangxi provinces, China. *Scientific Reports*, 9(1), 13176.
- Luis, A. D., Hayman, D. T., O'Shea, T. J., Cryan, P. M., Gilbert, A. T., Pulliam, J. R., ... & Webb, C. T. (2013). A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1756), 20122753.
- Luis, A. D., Hayman, D. T., O'Shea, T. J., Cryan, P. M., Gilbert, A. T., Pulliam, J. R., ... & Webb, C. T. (2013). A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special?. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1756), 20122753.
- Lund M (1994) Commensal rodents. In: Buckle A, Smith R (eds) Rodent pests and their control. CABI Publishing, Wallingford, pp 23–43. Buckle, A. P., & Smith, R. H. (Eds.). (2015). Rodent pests and their control. CABI.
- Lund, S., Flyvbjerg, A., Holman, G. D., Larsen, F. S., Pedersen, O., & Schmitz, O. (1994). Comparative effects of IGF-I and insulin on the glucose transporter system in rat muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 267(3), E461-E466.
- Macholán, M. (1999). *Mus musculus*. The Atlas of European Mammals, 286-297.
- Mada, P. K., Zulfiqar, H., & Chandranesan, A. S. J. (2023). Bartonellosis. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Madariaga, M. G., Rezai, K., Trenholme, G. M., & Weinstein, R. A. (2003). Q fever: a biological weapon in your backyard. *The Lancet infectious diseases*, 3(11), 709-721.

- Mantovani, A., & Benazzi, P. (1953). The isolation of *Coxiella burnetii* from *Rhipicephalus sanguineus* Los ácaros y los piojos fueron más prevalentes en las temporadas de invierno y verano. on naturally infected dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 122(911), 117-18.
- Margulis, H. L. (1977). Rat fields, neighborhood sanitation, and rat complaints in Newark, New Jersey. *Geographical Review*, 67(2), 221-231.
- Márquez-Jiménez, F. J., Hidalgo-Pontiveros, A., Contreras-Chova, F., Rodríguez-Liévana, J. J., & Muniain-Ezcurra, M. A. (2005). Ticks (Acarina: Ixodidae) as vectors and reservoirs of pathogen microorganisms in Spain. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(2), 94-102.
- Marsh, R. E. (1994). Roof rats. *The Handbook: Prevention and Control of Wildlife Damage*, 6.
- Marshall, A. G. (1981). *The ecology of ectoparasitic insects*. Academic Press Inc.(London) Ltd.
- Massung, R. F., Dasch, G. A., & Eremeeva, M. E. (2011). *Rickettsia* and *Coxiella*. In *Microbial Forensics* (pp. 277-295). Academic Press.
- Matuschka, F. R., Eiffert, H., Ohlenbusch, A., Richter, D., Schein, E., & Spielman, A. (1994). Transmission of the agent of Lyme disease on a subtropical island. *Tropical Medicine and Parasitology: Official Organ of Deutsche Tropenmedizinische Gesellschaft and of Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit (GTZ)*, 45(1), 39-44.
- Mediannikov, O., Aubadie-Ladrix, M., & Raoult, D. (2015). Candidatus 'Rickettsia senegalensis' in cat fleas in Senegal. *New Microbes and New Infections*, 3, 24-28.
- Meerburg, B. G., Singleton, G. R., & Kijlstra, A. (2009). Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Critical reviews in microbiology*, 35(3), 221-270.
- Mihalca, A. D., Dumitrache, M. O., Magdaş, C., Gherman, C. M., Domşa, C., Mircean, V., ... & Sándor, A. D. (2012). Synopsis of the hard ticks (Acari: Ixodidae) of Romania with update on host associations and geographical distribution. *Experimental and Applied Acarology*, 58, 183-206.
- Mills, D. S. (Ed.). (2010). *The encyclopedia of applied animal behaviour and welfare*. CABI.
- Milocco, C., Kamyngkird, K., Desquesnes, M., Jittapalapong, S., Herbreteau, V., Chaval, Y., ... & Morand, S. (2013). Molecular demonstration of *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma*

*lewisi* DNA in wild rodents from Cambodia, Lao PDR and Thailand. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60(1), 17-26.

Ministry of Health (1995). Manual of leptospirosis. Brasil, Brasília: p.98.

Ministry of Health (2007). Secretariat of Health Surveillance. Department of epidemiological surveillance. Epidemiological surveillance guide. 6. ed. Brasília: Ministry of Health.816p.

Morick, D, Krasnov BR, Khokhlova IS, Gottlieb Y, et al. (2013a). Dinâmica de transmissão de *Bartonella* sp. cepa OE 1-1 em jirds de Sundevall (*Meriones crassus*). *Appl Environ Microbiol*; 79: 1258–1264.

Moro, E., Scerrati, M., Romito, L. M. A., Roselli, R., Tonali, P., & Albanese, A. (1999). Chronic subthalamic nucleus stimulation reduces medication requirements in Parkinson's disease. *Neurology*, 53(1), 85-85.

Mosbacher, M. E., Klotz, S., Klotz, J., & Pinna, J. L. (2011). *Bartonella henselae* and the potential for arthropod vector-borne transmission. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(5), 471-477.

Muñoz-Sanz, A., Vera, A., & Vidigal, F. F. R. (2007). Fiebre Q en Extremadura: una infección emergente. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 25(4), 230-234.

Musser, G.G. & Carleton, M.D. (2005) Superfamily Muroidea. In: Wilson, D.E. and Reeder, D.M., Eds., *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2142.

Mwachui, M. A., Crump, L., Hartskeerl, R., Zinsstag, J., & Hattendorf, J. (2015). Environmental and behavioural determinants of leptospirosis transmission: a systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(9), e0003843.

Nagorsen, D. W. (2005). Rodents and Lagomorphs of British Columbia. Vol. 4: The Mammals of British Columbia. Royal British Columbia Museum, Victoria. British Columbia.

National Center for Epidemiology (Cenepi) of the National Health Foundation (FUNASA). (2002). Manual of rodent control. 132p. Brasilia.

Newton, P. N., Fournier, P. E., Tappe, D., & Richards, A. L. (2022). Renewed risk for epidemic typhus related to war and massive population displacement, Ukraine. *Emerging Infectious Diseases*, 28(10), 2125-2126.

Nowak, R. M. (1999). Walker's Mammals of the World (Volume 1). 6th Edition, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1166-1170.

Núncio, M. S., & Alves, M. J. (2014). Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores. *Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*.

Núñez, M. A., Contreras, K., Depix, M. S., Geoffroy, E., Villagra, N., Mellado, S., & Salinas, A. M. (2017). Prevalencia de *Bartonella henselae* en donantes de sangre y riesgo de transmisión sanguínea en Chile. *Revista chilena de infectología*, 34(6), 539-543.

Obaidat, M. M., Malania, L., Imnadze, P., Roess, A. A., Salman, A. E. B., & Arner, R. J. (2019). Seroprevalence and risk factors for *Coxiella burnetii* in Jordan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 101(1), 40.

Obiegala, A., Pfeffer, M., Pfister, K., Karnath, C., & Silaghi, C. (2015). Molecular examinations of *Babesia microti* in rodents and rodent-attached ticks from urban and sylvatic habitats in Germany. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 6(4), 445-449.

Oksi, J., Rantala, S., Kilpinen, S., Silvennoinen, R., Vornanen, M., Veikkolainen, V., ... & Pulliainen, A. T. (2013). Cat scratch disease caused by *Bartonella grahamii* in an immunocompromised patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(8), 2781-2784.

Oliveira, R. P., Galvão, M. A., Mafra, C. L., Chamone, C. B., Calic, S. B., Silva, S. U., & Walker, D. H. (2002). *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 8(3), 317.

Orgain, H., & Schein, M. W. (1953). A preliminary analysis of the physical environment of the Norway rat. *Ecology*, 34(3), 467-473.

Ortiz-Martínez, D. (2016). *Frecuencia de infección de Rickettsia typhi en perros, roedores, y garrapatas de la localidad de Bolmay, Yucatán, México* (Doctoral dissertation, Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Mérida, México).

Osorio, G. (2001). Search for the spirochete *Borrelia burgdorferi* sensu lato by polymerase chain reaction in wild Chilean ticks. *Revista Medica de Chile*, 129(3), 270-276.

Otranto, D., & Eberhard, M. L. (2011). Zoonotic helminths affecting the human eye. *Parasites & vectors*, 4(1), 1-21.

Oyedele, D. T., Sah, S. A. M., Kairuddinand, L., & Ibrahim, W. M. M. W. (2015). Range measurement and a habitat suitability map for the Norway rat in a highly developed urban environment. *Tropical life sciences research*, 26(2), 27.

Pacheco, R. C., Echaide, I. E., Alves, R. N., Beletti, M. E., Nava, S., & Labruna, M. B. (2013). *Coxiella burnetii* in ticks, Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 19(2), 344.

Panti-May, J. A., Duarte-Jiménez, A., Hernández-Betancourt, S. F., & Rodríguez-Vivas, R. I. (2021). A checklist of the helminth parasites of invasive murid rodents in Mexico. *Therya*, 12(1), 85-93.

Panti-May, J. A., Torres-Castro, M., Hernández-Betancourt, S., Dzul-Rosado, K., Zavala-Castro, J., López-Avila, K., & Tello-Martín, R. (2015a). Detection of *Rickettsia felis* in wild mammals from three municipalities in Yucatan, Mexico. *Ecohealth*, 12, 523-527.

Panti-May, J. A., Hernández-Betancourt, S. F., Rodríguez-Vivas, R. I., & Robles, M. D. R. (2015b). Infection levels of intestinal helminths in two commensal rodent species from rural households in Yucatan, Mexico. *Journal of helminthology*, 89(1), 42-48.

Parker, N. R., Barralet, J. H., & Bell, A. M. (2006). Q fever. *The Lancet*, 367(9511), 679-688.

Parola, P. (2006). Rickettsioses in Sub-Saharan Africa. *Annals of the New York academy of sciences*, 1078(1), 42-47.

Parola, P., & Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clinical infectious diseases*, 32(6), 897-928.

Parola, P., Cornet, J. P., Sanogo, Y. O., Miller, R. S., Thien, H. V., Gonzalez, J. P., ... & Wongsrichanalai, C. (2003). Detection of *Ehrlichia spp.*, *Anaplasma spp.*, *Rickettsia spp.*, and other eubacteria in ticks from the Thai-Myanmar border and Vietnam. *Journal of clinical microbiology*, 41(4), 1600-1608.

Parola, P., Paddock, C. D., Socolovschi, C., Labruna, M. B., Mediannikov, O., Kernif, T., ... & Raoult, D. (2013). Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clinical microbiology reviews*, 26(4), 657-702.

Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E. C., Burke, D. S., Calisher, C. H., ... & Daszak, P. (2008). Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 457-470.

- Peniche-Lara, G., Dzul-Rosado, K., Perez-Osorio, C., & Zavala-Castro, J. (2015). *Rickettsia typhi* in rodents and *R. felis* in fleas in Yucatán as a possible causal agent of undefined febrile cases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 57, 129-132.
- Perry, R. D., & Fetherston, J. D. (1997). *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(1), 35–66.
- Perry, J. S. (1945). The Reproduction of the Wild Brown Rat (*Rattus norvegicus* Erxleben). In *Proceedings of the Zoological Society of London* (Vol. 115, No. Pts I & II, pp. 19-46).
- Pieracci, E. G., De La Rosa, J. D. P., Rubio, D. L., Perales, M. E. S., Contreras, M. V., Drexler, N. A., ... & Villarino, M. E. (2019). Seroprevalence of spotted fever group rickettsiae in canines along the United States–Mexico border. *Zoonoses and public health*, 66(8), 918-926.
- Plyusnina, A., Heyman, P., Baert, K., Stuyck, J., Cochez, C., & Plyusnin, A. (2012). Genetic characterization of seoul hantavirus originated from norway rats (*Rattus norvegicus*) captured in Belgium. *Journal of medical virology*, 84(8), 1298-1303.
- Prentice, M. B., & Rahalison, L. (2007). Plague. *The Lancet*, 369(9568), 1196-1207.
- Preto, O., & Gerais-Brasil, M. (2004). Rickettsiosis en las Américas. *Informe Final. Consulta OPS/OMS Expertos sobre Rickettsiosis en las Américas. Ouro Preto (Brasil): OPS*.
- Previtali, M. A., Lima, M., Meserve, P. L., Kelt, D. A., & Gutiérrez, J. R. (2009). Population dynamics of two sympatric rodents in a variable environment: rainfall, resource availability, and predation. *Ecology*, 90(7), 1996-2006.
- Previtali, M. A., Meserve, P. L., Kelt, D. A., Milstead, W. B., & Gutierrez, J. R. (2010). Effects of more frequent and prolonged El Niño events on life-history parameters of the degu, a long-lived and slow-reproducing rodent. *Conservation Biology*, 24(1), 18-28.
- Probert, W., Louie, J. K., Tucker, J. R., Longoria, R., Hogue, R., Moler, S., ... & Fritz, C. L. (2009). Meningitis due to a “*Bartonella washoensis*”-like human pathogen. *Journal of clinical microbiology*, 47(7), 2332-2335.
- Psaroulaki, A., Antoniou, M., Toumazos, P., Mazeris, A., Ioannou, I., Chochlakis, D., ... & Tselentis, Y. (2010). Rats as indicators of the presence and dispersal of six zoonotic microbial agents in Cyprus, an island ecosystem: a seroepidemiological study. *Transactions of the Royal society of tropical medicine and Hygiene*, 104(11), 733-739.

- Purcell, R. H., Engle, R. E., Rood, M. P., Kabrane-Lazizi, Y., Nguyen, H. T., Govindarajan, S., ... & Emerson, S. U. (2011). Hepatitis e virus in rats, Los Angeles, California, USA. *Emerging infectious diseases*, 17(12), 2216.
- Pye, T., Swain, R., & Seppelt, R. D. (1999). Distribution and habitat use of the feral black rat (*Rattus rattus*) on subantarctic Macquarie Island. *Journal of Zoology*, 247(4), 429-438.
- Quintero Vélez, J. C., Marylin, H., & Rodas González, J. D. (2012). Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. *Universitas scientiarum*, 17(1), 82-99.
- Rabiee, M.H., Mahmoudi, A., Siahsarvie, R., Kryštufek B., Mostafavi, E. (2018). Enfermedades transmitidas por roedores y su importancia para la salud pública en Irán. *PLoS Neglected Tropical Diseases.*; 12: e0006256.
- Randremanana, R., Andrianaivoarimanana, V., Nikolay, B., Ramasindrazana, B., Paireau, J., Ten Bosch, Q. A., ... & Rajerison, M. (2019). Epidemiological characteristics of an urban plague epidemic in Madagascar, August–November, 2017: an outbreak report. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(5), 537-545.
- Raoult, D., & Roux, V. (1997). Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical microbiology reviews*, 10(4), 694-719.
- Raoult, D., Fournier, P. E., Abboud, P., & Caron, F. (2002). First documented human *Rickettsia aeschlimannii* infection. *Emerging infectious diseases*, 8(7), 748.
- Raoult, D., Marrie, T. J., & Mege, J. L. (2005). Natural history and pathophysiology of Q fever. *The Lancet infectious diseases*, 5(4), 219-226.
- Renvoisé, A., Joliot, A. Y., & Raoult, D. (2009). *Rickettsia felis* infection in man, France. *Emerging infectious diseases*, 15(7), 1126.
- Reperant, L. A., & Deplazes, P. (2005). Cluster of *Capillaria hepatica* infections in non-commensal rodents from the canton of Geneva, Switzerland. *Parasitology Research*, 96(5), 340-342.
- Richardson, R., Feigin, C. Y., Bano-Otalora, B., Johnson, M. R., Allen, A. E., Park, J., ... & Mallarino, R. (2023). The genomic basis of temporal niche evolution in a diurnal rodent. *Current Biology*, 33(15), 3289-3298.

- Richter, D., Kohn, C., & Matuschka, F. R. (2013). Absence of *Borrelia* spp., *Candidatus Neohrlichia mikurensis*, and *Anaplasma phagocytophilum* in questing adult *Dermacentor reticulatus* ticks. *Parasitology research*, *112*, 107-111.
- Richter, J., Fournier, P. E., Petridou, J., Häussinger, D., & Raoult, D. (2002). *Rickettsia felis* infection acquired in Europe and documented by polymerase chain reaction. *Emerging infectious diseases*, *8*(2), 207.
- Riehm, J.M., Tserennorov, D., Kiefer, D., Stuermer, I.W., Tomaso, H., Zoller, L., Otgonbaatar, D. & Scholz, H.C. (2011). *Yersinia pestis* en pequeños roedores, Mongolia. *Emerging Infectious Diseases*, *17*, 1320-1322.
- Riquelme Muñoz, M. L. (2019). Helminths gastrointestinales en roedores silvestres de distintos hábitats de la Región del Maule. Tesis de licenciatura, Universidad de Talca.
- Robinson, M. T., Satjanadumrong, J., Hughes, T., Stenos, J., & Blacksell, S. D. (2019). Diagnosis of spotted fever group *Rickettsia* infections: The Asian perspective. *Epidemiology & Infection*, *147*, e286.
- Robinson, M. W., & Dalton, J. P. (2009). Zoonotic helminth infections with particular emphasis on fasciolosis and other trematodiasis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1530), 2763-2776.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Panti-May, J. A., Parada-López, J., Hernández-Betancourt, S. F., & Ruiz-Piña, H. A. (2011). The occurrence of the larval cestode *Cysticercus fasciolaris* in rodent populations from the Cuxtal ecological reserve, Yucatan, Mexico. *Journal of Helminthology*, *85*(4), 458-461.
- Rolain, J. M., Bourry, O., Davoust, B., & Raoult, D. (2005). *Bartonella quintana* and *Rickettsia felis* in Gabon. *Emerging infectious diseases*, *11*(11), 1742.
- Ruedas, L. A. (2016). *Rattus Norvegicus* (Errata Version Published in 2020), IUCN Red List Threat. *Species 2016e*. T19353A165118026. Available online: <https://www.iucnredlist.org> (accessed on 29 December 2020).
- Sahley, C. T., Cervantes, K., Pacheco, V., Salas, E., Paredes, D., & Alonso, A. (2015). Diet of a sigmodontine rodent assemblage in a Peruvian montane forest. *Journal of Mammalogy*, *96*(5), 1071-1080.

Sánchez, J. P., & Lareschi, M. (2018). Diversity, distribution, and parasitism rates of fleas (Insecta: Siphonaptera) on sigmodontine rodents (Cricetidae) from Argentinian Patagonia. *Bulletin of Entomological Research*, 108(1), 72-83.

Sanchez Clemente, N., Ugarte-Gil, C. A., Solórzano, N., Maguiña, C., Pachas, P., Blazes, D., ... Moore, D. (2012). *Bartonella bacilliformis*: A systematic review of the literature to guide the research agenda for elimination. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(10), e1819.

Schneeberger, P. M., Wintenberger, C., Van der Hoek, W., & Stahl, J. P. (2014). Q fever in the Netherlands—2007–2010: what we learned from the largest outbreak ever. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(8), 339-353. PMID: 25108615.

Schriefer, M. E., Sacci Jr, J. B., Taylor, J. P., Higgins, J. A., & Azad, A. F. (1994). Murine typhus: updated roles of multiple urban components and a second typhuslike rickettsia. *Journal of Medical Entomology*, 31(5), 681-685.

Schroeder, C. L., Narra, H. P., Rojas, M., Sahni, A., Patel, J., Khanipov, K., ... & Sahni, S. K. (2015). Bacterial small RNAs in the genus *Rickettsia*. *BMC genomics*, 16(1), 1075.

Schroeder, C. L., Narra, H. P., Sahni, A., Khanipov, K., Patel, J., Fofanov, Y., & Sahni, S. K. (2017). Transcriptional profiling of *Rickettsia prowazekii* coding and non-coding transcripts during in vitro host-pathogen and vector-pathogen interactions. *Ticks and tick-borne diseases*, 8(6), 827-836.

Segura, B. A., & Gutiérrez, G. (2006). Cooperative behavior in rats: effects of early experience. *Interamerican Journal of Psychology*, 40(2), 241-252.

Sekeyová, Z., Danchenko, M., Filipčík, P., & Fournier, P. E. (2019). Rickettsial infections of the central nervous system. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(8), e0007469

Sekeyová, Z., Roux, V., & Raoult, D. (2001). Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(4), 1353-1360.

Sepúlveda-García, P., Rubio, A. V., Salgado, R., Riquelme, M., Bonacic, C., Canales, N., & Müller, A. (2023). Molecular detection and characterization of *Bartonella* spp. in rodents from central and southern Chile, with emphasis on introduced rats (*Rattus* spp.). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 100, 102026.

- Seshadri, R., Paulsen, I. T., Eisen, J. A., Read, T. D., Nelson, K. E., Nelson, W. C., ... & Heidelberg, J. F. (2003). Complete genome sequence of the Q-fever pathogen *Coxiella burnetii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(9), 5455-5460.
- Shabbir, M. Z., Akram, S., ul Hassan, Z., Hanif, K., Rabbani, M., Muhammad, J., ... & Jayarao, B. M. (2016). Evidence of *Coxiella burnetii* in Punjab province, Pakistan. *Acta tropica*, *163*, 61-69.
- Shimi, A., Keyhani, M., & Hedayati, K. (1979). Studies on salmonellosis in the house mouse, *Mus musculus*. *Laboratory animals*, *13*(1), 33-34.
- Shpynov, S. N., Fournier, P. E., Pozdnichenko, N. N., Gumenuk, A. S., & Skiba, A. A. (2018). New approaches in the systematics of rickettsiae. *New microbes and new infections*, *23*, 93–102.
- Shpynov, S., Pozdnichenko, N., & Gumenuk, A. (2015). Approach for classification and taxonomy within family Rickettsiaceae based on the Formal Order Analysis. *Microbes and Infection*, *17*(11-12), 839-844.
- Siciliano, R. F., Ribeiro, H. B., Furtado, R. H. D. M., Castelli, J. B., Sampaio, R. O., Santos, F. C. P. D., & Strabelli, T. M. V. (2008). Endocardite por *Coxiella burnetii* (febre Q): doenca rara ou pouco diagnosticada? Relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, *41*(4), 409-412.
- Silva de la Fuente, M. C. (2019). El complejo *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Mesostigmata) de roedores de Chile diversidad genética, variaciones morfológicas y patógenos asociados. Tesis para optar al grado de Doctor em Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Chillán, Chile.
- Silva de la Fuente, M. C. (2014). Taxonomía y factores ecológicos que afectan a ácaros mesostigmata asociados a roedores del Norte de Chile. Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias con mención Zoología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Silva de la Fuente, M. C., Pérez, C., Martínez-Valdebenito, C., Pérez, R., Vial, C., Stekolnikov, A., & Acosta-Jamett, G. (2023). Eco-epidemiology of rodent-associated trombiculid mites and infection with *Orientia spp.* in Southern Chile. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *17*(1), e0011051.
- Singleton, G. R., Belmain, S., Brown, P. R., Aplin, K., & Htwe, N. M. (2010). Impacts of rodent outbreaks on food security in Asia. *Wildlife Research*, *37*(5), 355-359.

Singleton, G. R., Leirs, H., Hinds, L. A., & Zhang, Z. (1999). Ecologically-based Management of Rodent Pests. *Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR)*, Canberra, 17-29.

Singleton, J. W., Hanauer, S. B., Gitnick, G. L., Peppercorn, M. A., Robinson, M. G., Wruble, L. D., ... & Pentasa Crohn's Disease Study Group. (1993). Mesalamine capsules for the treatment of active Crohn's disease: results of a 16-week trial. *Gastroenterology*, 104(5), 1293-1301.

Solís-Hernández, A., Rodríguez-Vivas, R. I., Esteve-Gassent, M. D., & Villegas-Pérez, S. L. (2016). Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in synanthropic rodents in two rural communities of Yucatan, Mexico. *Biomedica*, 36, 109-117.

Song, Y., Lan, Z., & Kohn, M. H. (2014). Mitochondrial DNA phylogeography of the Norway rat. *PLoS One*, 9(2), e88425.

Stein, A., & Raoult, D. (1992). Detection of *Coxiella burnetii* by DNA amplification using polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9), 2462-2466.

Stenseth, N. C., Leirs, H., Skonhøft, A., Davis, S. A., Pech, R. P., Andreassen, H. P., ... & Zhang, Z. (2003). Mice, rats, and people: the bio-economics of agricultural rodent pests. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(7), 367-375.

Storer, T.I., & Davis, D.E. (1953). Studies on rat reproduction in San Francisco. *Journal Mammal* 34:365–373.

Takahashi, L. K., & Lore, R. K. (1980). Foraging and food hoarding of wild *Rattus norvegicus* in an urban environment. *Behavioral and neural biology*, 29(4), 527-531.

Tamarin, R.H., Malecha, S.R. (1972). Reproductive parameters in *Rattus rattus* and *Rattus exulans* of Hawaii, 1968 to 1970. *Journal Mammal* 53:513–528.

Taylor, J. E., Mora, J., Adams, R., & Lopez-Feldman, A. (2008). Remittances, inequality and poverty: Evidence from rural Mexico. *Migration and development within and across borders: Research and policy perspectives on internal and international migration*, 101-130.

Tejedor-Junco, M. T., González, M., Corbera, J. A., & Gutiérrez, C. (2016). Presence of *Coxiella burnetii* (Q fever) in goats on the Canary Islands: Current status. *Small Ruminant Research*, 134, 62-64.

Thu, M. J., Qiu, Y., Matsuno, K., Kajihara, M., Mori-Kajihara, A., Omori, R., ... & Nakao, R. (2019). Diversity of spotted fever group rickettsiae and their association with host ticks in Japan. *Scientific Reports*, 9(1), 1500.

Torres-Castro, M. A. (2017). ¿Son los roedores sinantrópicos una amenaza para la salud pública de Yucatán?. *Revista Biomédica*, 28(3), 179-186.

Torres-Castro, M. A., Gutiérrez-Ruiz, E., Hernández-Betancourt, S., Peláez-Sánchez, R., Agudelo-Flórez, P., Guillermo-Cordero, L., & Puerto, F. I. (2014). First molecular evidence of *Leptospira* spp. in synanthropic rodents captured in Yucatan, Mexico. *Revue Méd Vét*, 165(7-8), 213-218.

Torres-Castro, M., Guillermo-Cordero, L., Hernández-Betancourt, S., Gutiérrez-Ruiz, E., Agudelo-Flórez, P., Peláez-Sánchez, R., ... & Puerto, F. I. (2016a). First histopathological study in kidneys of rodents naturally infected with *Leptospira* pathogenic species from Yucatan, Mexico. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 9(2), 145-147.

Torres-Castro, M. A., Medina-Espinosa, D. N., Panti-May, J. A., Hernández-Betancourt, S. F., Noh-Pech, H. R., Yeh-Gorocica, A. B., ... & Puerto, F. I. (2016b). First molecular evidence of *Toxoplasma gondii* in synanthropic rodents (*Mus musculus* and *Rattus rattus*) captured in Yucatan, Mexico. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 167(9-10), 250-255.

Traweger, D., Slotta-Bachmayr L (2005) Introducing GIS-modelling into the management of a brown rat (*Rattus norvegicus* Berk.) (Mamm. Rodentia Muridae) population in an urban habitat. *Journal of Pest Science*, 78:17–24.

Tsai, Y. L., Chang, C. C., Chuang, S. T., & Chomel, B. B. (2011). *Bartonella* species and their ectoparasites: selective host adaptation or strain selection between the vector and the mammalian host?. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 34(4), 299-314.

Tsai, Y. L., Chuang, S. T., Chang, C. C., Kass, P. H., & Chomel, B. B. (2010). *Bartonella* species in small mammals and their ectoparasites in Taiwan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(4), 917-923.

Umali, D. V., Lapuz, R. R. S. P., Suzuki, T., Shirota, K., & Katoh, H. (2012). Transmission and shedding patterns of *Salmonella* in naturally infected captive wild roof rats (*Rattus rattus*) from a *Salmonella*-contaminated layer farm. *Avian diseases*, 56(2), 288-294.

United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Urbanization Prospects: *The 2018 Revision* [press release]. 2018 [cited 2023 May 15]. <https://population.un.org/wup/Publications/Files/WUP2018-PressRelease.pdf>.

Vadell, M.V., Cavia, R., & Suárez, O.V. (2010). Abundance, age structure and reproductive patterns of *Rattus norvegicus* and *Mus musculus* in two areas of the city of Buenos Aires. *International Journal of Pest Management*, 56:327–336.

Vadell, M. V., Villafaña, I. G., & Cavia, R. (2014). Are life-history strategies of Norway rats (*Rattus norvegicus*) and house mice (*Mus musculus*) dependent on environmental characteristics? *Wildlife Research*, 41(2), 172-184.

Vaidya, V. M., Malik, S. V. S., Bhilegaonkar, K. N., Rathore, R. S., Kaur, S., & Barbuddhe, S. B. (2010). Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 33(4), 307-321.

Van der Hoek, W., Dijkstra, F., Wijers, N., Rietveld, A., Wijkmans, C.J., van Steenberg, J.E., et al. (2010). Three years of Q fever in the Netherlands: faster diagnosis. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*; 154: A1845.

Van der Hoek, W., Meekelenkamp, J. C., Leenders, A. C., Wijers, N., Notermans, D. W., & Hukkelhoven, C. W. (2011). Antibodies against *Coxiella burnetii* and pregnancy outcome during the 2007-2008 Q fever outbreaks in the Netherlands. *BMC infectious diseases*, 11(1), 44.

Van Soolingen, D., van der Zanden, A.G., de Haas, P.E., Noordhoek, G.T., Kiers, A., Foudraïne, N.A., Portaels, F., Kolk, A.H., Kremer, K., & van Embden, J.D. (1998). Diagnóstico de infecciones por *Mycobacterium microti* entre humanos utilizando nuevos marcadores genéticos. *Journal of Clinical Microbiology*; 36: 1840–1845.

Varela-Castro, L., Zuddas, C., Ortega, N., Serrano, E., Salinas, J., Castellà, J., ... & Mentaberre, G. (2018). On the possible role of ticks in the eco-epidemiology of *Coxiella burnetii* in a Mediterranean ecosystem. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(3), 687-694.

Venzal, J. M., & Nava, S. (2011). El género *Rickettsia* como agente de zoonosis en el Cono Sur de Sudamérica. *Revista Médica del Uruguay*, 27(2), 98-106.

Venzal, J.M., Pérez-Martínez, L., Félix, M.L., Portillo, A., Blanco, J.R., Oteo, J.A (2006). Prevalence of *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* from Uruguay. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1078, 305-308.

- Vigne, J. D., & Desse-Berset, N. (1995). The exploitation of animal resources in the Mediterranean Islands during the Pre-Neolithic: the example of Corsica. *Oxbow Monograph*, 309-318.
- Walker, D. H. (2004). Situação atual e tendências das Rickettsioses nas Américas. *CONSULTA de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas. Ouro Preto:[Organização Pan-americana de Saúde]*, 19-21.
- Walker, D. H. (2009). The realities of biodefense vaccines against *Rickettsia*. *Vaccine*, 27, D52-D55.
- Weisburg, W. G., Dobson, M. E., Samuel, J. E., Dasch, G. A., Mallavia, L. P., Baca, O., ... & Woese, C. R. (1989). Phylogenetic diversity of the Rickettsiae. *Journal of bacteriology*, 171(8), 4202-4206.
- Weitzel, T., Martínez-Valdebenito, C., Acosta-Jamett, G., Jiang, J., Richards, A. L., & Abarca, K. (2019). Scrub typhus in continental Chile, 2016–2018. *Emerging Infectious Diseases*, 25(6), 1214.
- Welch, D. F., Carroll, K. C., Hofmeister, E. K., Persing, D. H., Robison, D. A., Steigerwalt, A. G., & Brenner, D. J. (1999). Isolation of a New Subspecies, *Bartonella vinsoniisubsp. arupensis*, from a Cattle Rancher: Identity with Isolates Found in Conjunction with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* among Naturally Infected Mice. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(8), 2598-2601.
- Werden, L., Barker, I. K., Bowman, J., Gonzales, E. K., Leighton, P. A., Lindsay, L. R., & Jardine, C. M. (2014). Geography, deer, and host biodiversity shape the pattern of Lyme disease emergence in the Thousand Islands Archipelago of Ontario, Canada. *PLoS One*, 9(1), e85640.
- Whishaw, I. Q., & Whishaw, G. E. (1996). Conspecific aggression influences food carrying: Studies on a wild population of *Rattus norvegicus*. *Aggressive Behavior: Official Journal of the International Society for Research on Aggression*, 22(1), 47-66.
- Whisson, D. A., Quinn, J. H., & Collins, K. C. (2007). Home range and movements of roof rats (*Rattus rattus*) in an old-growth riparian forest, California. *Journal of mammalogy*, 88(3), 589-594.
- Whitney, E. A. S., Massung, R. F., Candee, A. J., Ailes, E. C., Myers, L. M., Patterson, N. E., & Berkelman, R. L. (2009). Seroepidemiologic and occupational risk survey for *Coxiella burnetii* antibodies among US veterinarians. *Clinical Infectious Diseases*, 48(5), 550-557.

World Health Organization Africa. Plague outbreak Madagascar. External Situation Report 12; 2017 Nov 20.

Wyatt, K. B., Campos, P. F., Gilbert, M. T. P., Kolokotronis, S. O., Hynes, W. H., DeSalle, R., ... & Greenwood, A. D. (2008). Historical mammal extinction on Christmas Island (Indian Ocean) correlates with introduced infectious disease. *PloS one*, 3(11), e3602.

Xu, G., Walker, D. H., Jupiter, D., Melby, P. C., & Arcari, C. M. (2017). A review of the global epidemiology of scrub typhus. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(11), e0006062. PMID: 29099844; PMCID: PMC5687757.

Ying, B., Kosoy, M. Y., Maupin, G. O., Tsuchiya, K. R., & Gage, K. L. (2002). Genetic and ecologic characteristics of *Bartonella* communities in rodents in southern China. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66(5), 622-627.

Ying, B., Kosoy, M.Y., Diaz, M.H., Winchell, J., Baggett, H., Maloney, S.A., Boonmar, S., Bhengsri, S., Sawatwong, P., Peruski, L.F. (2012). *Bartonella vinsonii* subsp. *Arupensis* em humanos. *Ensinamentos infecciosos emergentes de Tailândia* 18 (6): 989 – 991.

Yokoyama, E., Maruyama, S., Kabeya, H., Hara, S., Sata, S., Kuroki, T., & Yamamoto, T. (2007). Prevalence and genetic properties of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type 104 isolated from *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* house rats in Yokohama City, Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(8), 2624-2630.

Zanatto, D. C. D. S. (2019). Ocorrência de *Coxiella burnetii* em ruminantes domésticos e selvagens no Brasil.

Zavala-Velázquez, J. E., Ruiz-Sosa, J. A., Sánchez-Elias, R. A., Becerra-Carmona, G., & Walker, D. H. (2000). *Rickettsia felis* rickettsiosis in Yucatan. *The Lancet*, 356(9235), 1079-1080.

Zhang, M., Zhao, Z. T., Yang, H. L., Zhang, A. H., Xu, X. Q., Meng, X. P., & Zhang, L. Y. (2013). Molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in chiggers and ticks from domestic rodents in Shandong, northern China. *Parasites & vectors*, 6, 1-9.

Ziporyn, T., & McClintock, M.K. (1991). Passing as an indicator of social dominance among female wild and domestic Norway rats. *Behavior*, 118:26–41.

## CAPÍTULO II

Bacterias potencialmente patógenas de los géneros *Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia* en artrópodos vectores asociados a poblaciones de *Rattus rattus* en Chile.

### RESUMEN

Los roedores murinos representan sólo un tercio de las especies de mamíferos y son de gran relevancia para la salud pública. Entre estas, destacamos a las especies sinantrópicas que se encuentran comúnmente en ambientes urbanos y rurales e incluso como invasoras de ambientes silvestres, como *Rattus rattus*. Esta especie es un importante reservorio de varios patógenos zoonóticos y un porcentaje de estos patógenos son transmitidos por ectoparásitos. El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre la prevalencia y diversidad de ectoparásitos de *R. rattus* y bacterias de los géneros *Rickettsia*, *Bartonella* y *Coxiella* en zonas con diferentes grados de intervención antropogénica en Chile (urbanos, rurales y silvestres). Para esto, los roedores fueron capturados con trampas de captura viva y sus ectoparásitos (pulgas, garrapatas, piojos y ácaros) fueron recolectados, identificados y disecados para la extracción de ADN. La detección de las bacterias se realizó mediante qPCR utilizando los genes *nuoG* para *Bartonella*, *gltA* para *Rickettsia* y *icd* para *Coxiella*. La diversidad de bacterias para cada especie de ectoparásitos se estimó como la diversidad haplotípica de las secuencias de ADN obtenidas para los genes secuenciados. Se estimó la diversidad mediante el índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), y la prevalencia de bacterias y ectoparásitos para cada tipo de localidad estudiada. Se recolectaron 411 individuos de la especie *R. rattus* en otoño (n=27), invierno (n=168), primavera (n=28) y verano (n=188) en ciudades (n=190), zonas rurales (n=64) y zonas silvestres (n=157). De estos se obtuvieron 1.328 ectoparásitos, entre piojos (52,48%; n= 697), ácaros (16,94%, n=225), pulgas (16,94%; n=225) y garrapatas (13,63 %; n=181). La zona silvestre mostró la mayor prevalencia de roedores parasitados (41,8%; n=172/411), seguida por la ciudad (31,6%; n=130/411) y finalmente la zona rural (11,4%; n=47/411). Las especies más prevalentes fueron el piojo *Polypax spinulosa* (82%), la garrapata *Ixodes sigelos* (53%), los ácaros *Ornithonyssus* spp. (35%), y la pulga *Leptopsylla segnis* (25%). Los piojos fueron los ectoparásitos más abundantes (52,48% del total). Los ácaros y los piojos fueron más prevalentes en las temporadas de invierno y verano. No se registró diferencias significativas en la prevalencia general de *Bartonella* spp. (44% en zona rural, 54% en zona urbana; 60% en zona silvestre; p=0,06) y *Rickettsia* spp. (46% en zona rural, 56% en zona urbana; 56% en zona silvestre; p=0,98) entre los tipos de zonas analizadas. A pesar de esto, las prevalencias más altas

de *Bartonella* las alcanzaron los ácaros (33,3%) y las pulgas (55,9%) de las zonas rurales y las prevalencias más altas de *Rickettsia* fueron registradas en ácaros de las zonas rurales (66,7%). Las secuencias de *Bartonella* analizadas con base en la región amplificada *gltA* (n = 9) se ubicó en dos clados: uno que agrupó a seis secuencias no identificadas y el segundo a dos secuencias estrechamente relacionadas con *B. tribocorum* procedente de Puerto Aysén (100% de identidad) y *B. coopersplainsensis* registrada en Francia (97% de identidad). El análisis basado en secuencias de la región *ITS* (n = 5) reveló un clado monofilético con secuencias no identificadas de *Bartonella* aisladas de varios ectoparásitos de *R. rattus* de diferentes localidades; y otro grupo con secuencia similar a *B. tribocorum* identificado a partir de una pulga en Puerto Aysén. Para el caso de *Rickettsia*, 21 de las secuencias analizadas de la región genética de la proteína *ompB* (n = 26) fueron idénticas a la cepa California 2 de *R. felis* (CP000053.1), aunque cinco de ellas mostraron proximidad a *R. felis* con menor identidad de nucleótidos. La única secuencia analizada en base a la región *gltA* (pulga de Illapel) estuvo asociada a una muestra de *Rickettsia* no cultivada procedente de vectores (pulgas y garrapatas) en la zona centro-oeste de Brasil. El análisis en *Rickettsia* dio como resultado dos haplotipos para *ompB*. La diversidad haplotípica en este caso fue baja (0,06). El análisis de haplotipos en *Bartonella* dio como resultado diez haplotipos para *rpoB*, siete para *gltA* y tres para *ITS*. Los valores de diversidad haplotípica fueron altos (Hd para *rpoB* = 0,87, Hd para *gltA* = 0,94, Hd para *ITS* = 0,70), lo que indica un elevado número de haplotipos únicos y exclusivos con un tamaño histórico bajo en las poblaciones. No se detectó *Coxiella* en ninguna de las muestras analizadas. El presente estudio mostró que las prevalencias generales de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. no se diferenciaron con respecto al tipo de localidad. La zona silvestre fue donde se presentó la mayor prevalencia de piojos y ácaros, además de la mayor ocurrencia de ectoparásitos infectados por *Bartonella*, sin embargo no se registró diferencias significativas entre zonas con distinto grado de perturbación. Los ácaros y pulgas de las zonas rurales también alcanzaron altas prevalencias de *Bartonella* y, sorprendentemente, *Rickettsia* se encontró más en las zonas urbanas, con una frecuencia similar a la de las zonas silvestres. Estos datos ofrecen un aporte, incorporando información relevante sobre la biodiversidad de estas especies en Chile.

**Palabras claves:** *Rattus rattus*, ectoparásitos, *Bartonella*, *Rickettsia*, zona urbana, zona rural, zona silvestre, Chile.

## ABSTRACT

Murine rodents represent only one third of the mammalian species and are of great relevance to public health. Among these, we highlight synanthropic species commonly found in urban and rural environments and even as invaders of wild environments, such as *Rattus rattus*. This species is an important reservoir of several zoonotic pathogens, and a percentage of these pathogens are transmitted by ectoparasites. The aim of this study was to evaluate the association between the prevalence and diversity of *R. rattus* ectoparasites and bacteria of the genera *Rickettsia*, *Bartonella* and *Coxiella* in areas with different degrees of anthropogenic intervention in Chile (urban, rural, and wild). For this, rodents were captured with live traps and their ectoparasites (fleas, ticks, lice, and mites) were collected, identified, and dissected for DNA extraction. Bacterial detection was performed by qPCR using the genes *nuoG* for *Bartonella*, *gltA* for *Rickettsia* and *icd* for *Coxiella*. Bacterial diversity for each ectoparasite species was estimated as the haplotypic diversity of the DNA sequences obtained for the sequenced genes. Diversity was estimated using the Shannon-Wiener index (H'), and the prevalence of bacteria and ectoparasites for each *type* of locality studied. A total of 411 individuals of the species *R. rattus* were collected in autumn (n=27), winter (n=168), spring (n=28) and summer (n=188) in cities (n=190), rural areas (n=64) and wild areas (n=157). Of these, 1,328 ectoparasites were obtained, including lice (52.48%; n= 697), mites (16.94%, n=225), fleas (16.94%; n=225) and ticks (13.63 %; n=181). The wild area showed the highest prevalence of parasitized rodents (41.8%; n=172/411), followed by the city (31.6%; n=130/411) and finally the rural area (11.4%; n=47/411). The most prevalent species were the louse *Polypax spinulosa* (82%), the tick *Ixodes sigelos* (53%), the mites *Ornithonyssus* spp. (35%), and the flea *Leptopsylla segnis* (25%). Lice were the most abundant ectoparasites (52.48% of the total). Mites and lice were more prevalent in the winter and summer seasons. There were no significant differences in the overall prevalence of *Bartonella* spp. (44% in rural areas, 54% in urban areas; 60% in wild areas; p=0.06) and *Rickettsia* spp. (46% in rural areas, 56% in urban areas; 56% in wild areas; p=0.98) between the types of areas analyzed. Despite this, the highest prevalences of *Bartonella* were reached by mites (55.5%) and fleas (55.9%) from rural areas and the highest prevalences of *Rickettsia* were recorded in mites from rural areas (66.7%). The *Bartonella* sequences analyzed based on the *gltA* amplified region (n = 9) were placed in two clades: one grouping six unidentified sequences and the second two sequences closely related to *B. tribocorum* from Puerto Aysén (100% identity) and *B. cooperplainsensis* recorded in France

(97% identity). *Bartonella* sequences analyzed based on the *gltA* amplified region (n = 9) were placed in two clades: one grouping six unidentified sequences and the second two sequences closely related to *B. tribocorum* from Puerto Aysén (100% identity) and *B. coopersplainsensis* recorded in France (97% identity). Sequence-based analysis of the ITS region (n = 5) revealed a monophyletic clade with unidentified *Bartonella* sequences isolated from several ectoparasites of *R. rattus* from different localities; and another group with sequence similar to *B. tribocorum* identified from a flea in Puerto Aysén. In the case of *Rickettsia*, 21 of the analyzed sequences of the genetic region of the *ompB* protein (n = 26) were identical to the California 2 strain of *R. felis* (CP000053.1), although five of them showed proximity to *R. felis* with lower nucleotide identity. The only sequence analyzed based on the *gltA* region (Illapel flea) was associated with an uncultured *Rickettsia* sample from vectors (fleas and ticks) in west-central Brazil. The analysis in *Rickettsia* resulted in two haplotypes for *ompB*. Haplotype diversity in this case was low (0.06). Haplotype analysis in *Bartonella* resulted in ten haplotypes for *rpoB*, seven for *gltA* and three for *ITS*. Haplotype diversity values were high (Hd for *rpoB* = 0.87, Hd for *gltA* = 0.94, Hd for *ITS* = 0.70), indicating a high number of unique and exclusive haplotypes with low historical size in the populations. *Coxiella* was not detected in any of the samples tested. The present study showed that the overall prevalences of *Bartonella spp.* and *Rickettsia spp.* did not differ with respect to the type of locality. The wild area had the highest prevalence of lice and mites, as well as the highest occurrence of *Bartonella*-infected ectoparasites, but there were no significant differences between areas with different degrees of disturbance. Mites and fleas in rural areas also reached high prevalences of *Bartonella* and, surprisingly, *Rickettsia* was found more in urban areas, with a frequency similar to that of wild areas. These data offer a contribution to add relevant information on the biodiversity of these species in Chile.

**Keywords:** *Rattus rattus*, ectoparasites, *Bartonella*, *Rickettsia*, urban area, rural area, wild area, Chile.

## 1. Introducción

Los roedores murinos, constituyendo casi un tercio de las especies de mamíferos, son de suma importancia para la salud pública, especialmente las especies sinantrópicas que cohabitan con los humanos. Entre ellas, se destacan *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* y *Mus musculus* (Steppan et al., 2004; Himsforth et al., 2013). La composición de estas comunidades de roedores varía según el entorno, siendo más abundantes en ambientes urbanos y rurales, e incluso invadiendo hábitats silvestres (Monteverde et al., 2017).

Estos roedores son conocidos por ser portadores de al menos 66 enfermedades zoonóticas, transmitidas por virus, bacterias, hongos, helmintos y protozoos (Han et al., 2015). Entre los patógenos más estudiados recientemente se encuentran aquellos transmitidos por artrópodos hematófagos, representando aproximadamente el 12% de las enfermedades asociadas a los roedores (Meerburg et al., 2009; Luis et al., 2013; Chaisiri et al., 2015; Han et al., 2015). Pulgas, ácaros y piojos son los ectoparásitos más prevalentes en ratas y ratones, mientras que las garrapatas, aunque son vectores importantes de agentes infecciosos, no suelen parasitar a los roedores sinantrópicos (Berday; Webster & MacDonald, 1995; Mihalca et al., 2012; Hornok et al., 2015; Chakma et al., 2017).

En esta investigación, se centrará en el estudio de bacterias de los géneros *Bartonella*, *Coxiella* y *Rickettsia*, seleccionadas por su potencial patógeno y su transmisión a través de artrópodos asociados a roedores. A pesar de la distribución amplia de estos roedores y su importancia en salud humana, aún persiste un vacío de conocimiento sobre las bacterias mencionadas y el papel de los ectoparásitos en su transmisión. Se desconocen los principales vectores, reservorios y hospedadores, así como los factores ambientales que afectan su distribución.

La detección y caracterización de patógenos con potencial zoonótico son fundamentales para comprender las dinámicas espaciales y sugerir medidas efectivas de manejo. Es evidente que la presencia de estas bacterias está asociada a ambientes con cierto grado de perturbación antrópica, lo que subraya la importancia de este estudio para la salud pública y el bienestar animal (Armien et al., 2016).

### *Cambios en el ecotono urbano - rural y efecto en las enfermedades transmitidas por vectores*

El cambio gradual que se produce en la estructura de las comunidades desde ambientes silvestres a urbanos puede traer como consecuencia que patógenos procedentes de áreas silvestres y rurales se adapten a las condiciones urbanas, y otros patógenos surjan (o reaparezcan) en las áreas urbanas (Jone, 2008). Esta adaptación o surgimiento de patógenos en áreas urbanas tiene efectos profundos en la salud pública (Jone, 2008), ya que la transmisión y dispersión de las enfermedades en ambientes urbanos tiende a ser más rápida debido a la alta densidad de sus habitantes (e.g. Leishmaniasis, Virus del oeste del Nilo, Dengue; WHO, 2013; Haley et al., 2012; Desjeux, 2001). Por ejemplo, en roedores se ha observado que la prevalencia de *Leptospira* incrementa desde ambientes rurales a urbanos (Blasdell et al., 2019). Fundamentalmente, las características del entorno urbano pueden cambiar la dinámica de la vida de los hospedadores en la fauna silvestre y aumentar la frecuencia de exposición humana a patógenos zoonóticos (Blasdell et al., 2019).

La expansión urbana modifica la estructura de las comunidades de roedores, favoreciendo las especies generalistas y también a las especies sinantrópicas, en detrimento de los roedores silvestres nativos especializados (Bradley & Altizer, 2007; Faeth et al., 2005). Con el aumento de la expansión de la población humana que invade áreas silvestres, aumenta la posibilidad de contacto con ectoparásitos de roedores infectados (Fantozzi, 2019; Moreno et al., 2019; Melis, 2023). Los roedores sinantrópicos pueden jugar un rol importante en vincular a los roedores silvestres y las comunidades humanas, exponiendo a estos últimos a algunos agentes zoonóticos que circulan en los ecosistemas naturales (Meerburg et al., 2009; Moreno et al., 2019). Sumado a esto, los entornos modificados por el humano ofrecen refugio, alimento y áreas de reproducción para roedores sinantrópicos, y esto trae como consecuencia un aumento en la densidad de estas especies de roedores, lo que puede contribuir a aumentar ciertos ectoparásitos presentes en estas especies aumentando la probabilidad de transmitir enfermedades (Dickman & Doncaster, 1987; Hassel et al., 2017).

Por otro lado, las zonas rurales desempeñan un papel crucial en la epidemiología de las enfermedades infecciosas al actuar como puntos de interacción entre especies silvestres y domésticas, incluidos los humanos. Esto genera que en estas zonas pueda existir una mayor probabilidad de surgimiento de enfermedades, las que pueden luego dispersarse, tanto a ambientes urbano, como silvestres (Ej. SARS; Li et al., 2005; Neiderud, 2015). Por ejemplo,

una reciente investigación realizada en Chile identificó mayor prevalencia de *Bartonella* spp. en pulgas de ratas (*R. rattus*) en zonas rurales, comparado con ciudades y ambientes naturales. Esta mayor prevalencia estuvo asociada a una mayor abundancia y prevalencia de pulgas registrada en estas zonas rurales (Moreno et al., 2019). En esta investigación, las especies de pulgas encontradas en *R. rattus* correspondieron a pulgas que parasitan a los roedores nativos, lo que indica el grado de contacto entre ambos tipos de roedores. Resultados similares se observaron para *Rickettsia* spp., donde la mayor prevalencia en pulgas de roedores se encontró en áreas silvestres y rurales, en comparación con ciudades (Moreno et al., 2020). La transmisión de ectoparásitos infectados entre roedores silvestres puede amplificar la infección bacteriana, aumentando también la probabilidad de que estos parásitos infectados entren en contacto con humanos en áreas rurales y silvestres (Beaucournu et al., 2014; Burger et al., 2012; Moreno et al., 2019).

Una mayor abundancia y densidad de roedores favorece una mayor prevalencia y diversidad de parásitos y enfermedades y, a su vez, una mayor frecuencia de infección en humanos (Parrish et al., 2008; Werden et al., 2014; Bordes et al., 2015; Moreno et al., 2019). Por ello, la evaluación del efecto del cambio de las comunidades de ectoparásitos de los roedores sobre la presencia de patógenos es fundamental para comprender las dinámicas espaciales de los patógenos zoonóticos y sugerir medidas efectivas de manejo a las autoridades competentes.

Aunque existe una extensa literatura sobre roedores sinantrópicos en todo el mundo, la información sobre patógenos transportados por ectoparásitos de roedores sinantrópicos es escasa (Nava et al., 2003, 2017; González-Acuña et al., 2004; Lareschi & Krasnov, 2010; Nava & Lareschi, 2012; Lareschi et al., 2016; López-Berrizbeitia, 2018; Yáñez-Meza et al., 2018; Moreno et al., 2019). Esto es explicado fundamentalmente por la dificultad en la recolección de los ectoparásitos, los que abandonan a sus hospedadores cuando quedan atrapados en las trampas (Hornok et al., 2015). Además, la captura de roedores sinantrópicos puede ser más compleja que la de otros roedores, lo que se suma a problemas logísticos debido al robo o destrucción de trampas en áreas urbanas (Parson et al., 2015; Himsforth et al., 2014).

Dada la relevancia de lo anteriormente señalado y que más del 75% de las enfermedades humanas son de origen zoonótico (Taylor, Latham & Woolhouse, 2001), es importante conocer las bacterias con potencial patógeno que se encuentran circulando en ectoparásitos de ratas en áreas con distinto grado de urbanización, y conocer la distribución de éstas en los roedores que están en contacto con el humano (reservorios y vectores).

## 2. Hipótesis

**H1:** Considerando que las zonas rurales actúan como áreas de encuentro entre roedores silvestres y sinantrópicos se espera una mayor abundancia, prevalencia y diversidad de ectoparásitos en *R. rattus*.

**H2:** Este fenómeno se asociará con una mayor diversidad y prevalencia de bacterias pertenecientes a los géneros *Rickettsia*, *Bartonella* y *Coxiella* presentes en dichos ectoparásitos.

## 3. Objetivos

### 3.1 Objetivo general

Evaluar la asociación entre la abundancia, prevalencia y diversidad de ectoparásitos (piojos, pulgas, ácaros y garrapatas), con la diversidad y prevalencia de bacterias potencialmente patógenas de los géneros *Rickettsia*, *Bartonella* y *Coxiella* presentes en dichos ectoparásitos, en poblaciones de *Rattus rattus*, considerando áreas con diferentes grados de intervención antrópica en Chile.

### 3.2 Objetivos específicos

- 1) Estimar la prevalencia, abundancia, diversidad de ectoparásitos en *Rattus rattus* en localidades con distinto grado de intervención antrópica en Chile.
- 2) Estimar la prevalencia de bacterias *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella* en los ectoparásitos de *Rattus rattus* en zonas con distinta intervención antrópica.
- 3) Determinar la diversidad haplotípica y la cercanía filogenética de bacterias detectadas con grupos de bacterias potencialmente patógenas.
- 4) Evaluar la asociación entre el tipo de localidad, abundancia, diversidad y prevalencia de ectoparásitos con respecto a la diversidad y prevalencia de bacterias detectadas en poblaciones de *Rattus rattus* en Chile.

## 4. Materiales y Métodos

### Área de estudio

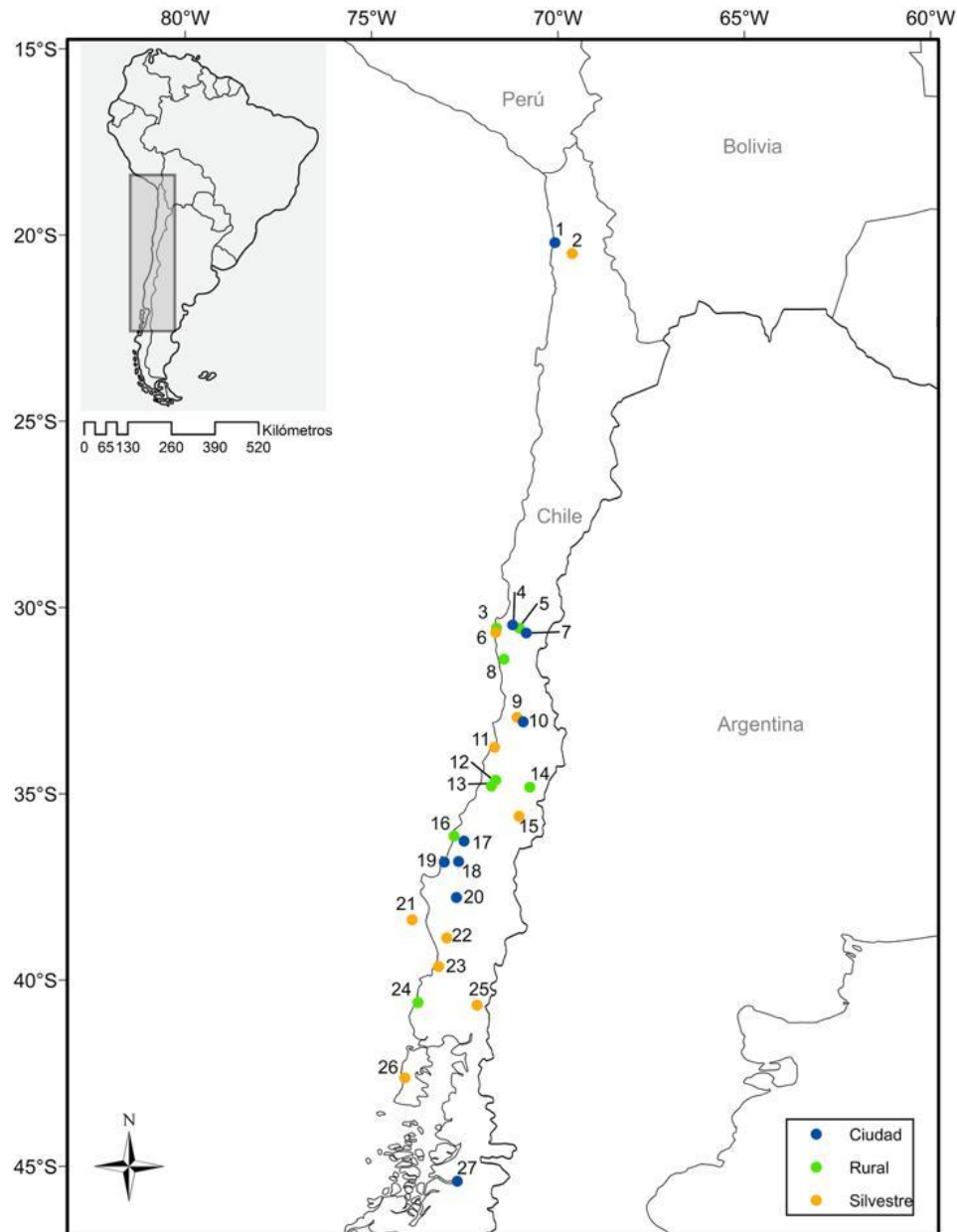
Para la investigación se utilizaron ectoparásitos recolectados previamente desde *R. rattus*, durante el desarrollo del proyecto FONDECYT de iniciación 11150875. Se analizaron 27 localidades (ver Tabla 1 y Figura 1) clasificadas según grado de antropización siguiendo las definiciones del Instituto Nacional de Estadística: "Ciudad" (entidad urbana de más de 5.000 habitantes) y "Rural" (entidad rural con una población entre 2.001 y 5.000 habitantes, o entre 1.001 y 2.000 habitantes, que cumple con los criterios de actividad económica del INE, 2005). Las áreas naturales ("Silvestre") evaluadas estuvieron compuestas por Parques y Reservas administrados por CONAF (Corporación Nacional Forestal).

Tabla 1. Localidades incluidas en esta investigación. Se indica grado de antropización con sus respectivas localidades, coordenadas y número identificadorio, este último es indicado en el mapa a continuación.

Grado de Antropización	Localidades	Coordenadas		Numero
		LAT	LONG	
Ciudad	Iquique	-20,200000	-70,080000	1
	Illapel	-30,583333	-71,200000	4
	Monte Patria	-30,683333	-70,933333	7
	Til-til	-33,066667	-70,933333	10
	Santa Cruz	-34,716667	-71,633333	12
	Quirihue	-36,266667	-72,516667	17
	Florida	-36,816667	-72,666667	18
	Concepción	-36,833333	-73,050000	19
	Angol	-37,783333	-72,722778	20
	Puerto Aysen	-45,400000	-72,700000	27
Rural	El Morai	-30,550000	-71,650000	3
	Sotaquí	-30,636445	-71,118196	5
	Canela Baja	-31,383333	-71,450000	8
	Lolol	-34,716667	-71,633333	13
	Sierra de Bellavista	-34,818889	-70,753056	14
	Cobquecura	-36,133333	-72,783333	16
	Maicolpué	-40,602778	-73,753333	24
	R.N. Pampa del Tamarugal	-20,495597	-69,617546	2
Silvestre	P.N. Fray Jorge	-30,666667	-71,666667	6
	R.N. La Campana	-32,946007	-71,091463	9
	R.N. El Yali	-33,750827	-71,699478	11
	R.N Altos de Lircay	-35,599167	-71,044444	15
	R.N. Isla Mocha	-38,378727	-73,908462	21
	R.N. Nonguén	-38,866667	-72,983333	22
	San Martín	-39,635611	-73,198753	23

P.N. Puyehue	-40,671111	-72,169167	25
P.N. Chiloé	-42,622222	-74,108611	26

Fuente: Elaboración propia. R.N.: Reserva Nacional; P.N.: Parque Nacional.



**Figura 1.** Mapa de Chile indicando las localidades de muestreo de roedores subdividido; Azul: zona urbana (Ciudad), Verde: zona rural, Naranja: zona silvestre. Los números fueron indicados en la Tabla 1.

### **Captura de roedores y recolección de ectoparásitos**

Los roedores fueron capturados vivos mediante trampas tipo Sherman cebadas con avena, durante dos noches consecutivas en cada sitio de muestro y en dos estaciones en el año, entre diciembre y febrero y entre julio y septiembre. Para abarcar un área amplia, se dispusieron transectos equipados con 200 trampas, con una distancia de 10 m entre ellas, lo que resultó en un esfuerzo total de muestreo de 4.800 trampas por noche. Esto que permitió obtener una muestra representativa de la población de roedores en cada localidad y en cada estación.

Cada roedor capturado fue identificado usando la descripción proporcionada por Iriarte (2008). Con el fin de asegurar el bienestar de los animales y facilitar el manejo, cada roedor fue anestesiado mediante una combinación de ketamina (100mg/ml): xilazina (23,3 mg/ml) (1:1) dosificada en volúmenes de 0,01 a 0,03 ml (para roedores entre 20 a 40 g) y 0,1 a 0,3 ml para ratas (200g a 400g) (Kreeger et al., 2012). Una vez sedados, los roedores fueron sexados y examinados para la recolección de ectoparásitos, los que se colectaron con la ayuda de pinzas finas y fijados en alcohol 96°, para su posterior identificación. El tiempo de recolección puede ser considerado como el tiempo promedio en que los roedores permanecen anestesiados, habitualmente entre 10 y 15 minutos por animal. Finalmente, los roedores fueron eutanasiados mediante dislocación cervical, almacenados en alcohol 96% y transportados al Laboratorio de Ecología de Parásitos, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción. Los roedores, junto con los ectoparásitos recolectados fueron almacenados en crioviales con alcohol al 96%. En el laboratorio, los roedores fueron nuevamente revisados en búsqueda de los parásitos que no fueron recolectados en terreno, realizando una revisión detallada de los cadáveres de los roedores. La manipulación y eutanasia de los animales se realizó de acuerdo con los protocolos para estudios de campo y laboratorio con roedores (Herbreteau et al., 2011) y los protocolos fueron aprobados por el Comité de Ética de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Concepción (Anexo 1). Las capturas de los roedores fueron autorizadas por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG R.E: 8968-2015, 1657-2016, 73-2016, 23-2017), y la Corporación Nacional Forestal (CONAF N°018-2015).

### **Montaje e identificación de ectoparásitos**

**Montaje pulgas:** Las pulgas recolectadas fueron montadas siguiendo la metodología modificada de Hastriter y Whiting (2009). Estas fueron cuidadosamente depositadas en una

placa Petri que contenía una solución de Hidróxido de Potasio (KOH) al 10%. Esta solución permitió eliminar el contenido digestivo de las pulgas durante un periodo de 48 horas. Posteriormente, las pulgas fueron sometidas a un proceso de limpieza utilizando agua destilada. Luego se deshidrataron a través del paso por concentraciones ascendentes de alcohol (40%, 70%, 80% y 96%). Finalmente, las pulgas fueron aclaradas con creolina durante 20 minutos y montadas utilizando bálsamo de Canadá.

**Montaje de ácaros y garrapatas:** Los ácaros y las garrapatas fueron recolectados y aclarados en solución Nesbitt (40 g. de Hidrato de cloral, 25 mL de agua destilada y 2,5 mL de HCL concentrado). Este aclarado se llevó a cabo durante 72 horas, lo que permitió una óptima preparación de los especímenes. Posteriormente, fueron montados en preparaciones permanentes utilizando solución Berlesse (Krantz, 1978).

**Montaje de piojos:** Estos ectoparásitos fueron tratados con KOH al 20% para su depósito inicial. Luego, fueron teñidos en alcohol-fenol-eosina. A continuación, se procedió a su clarificación mediante alcohol-fenol. Finalmente, fueron montados permanentemente utilizando bálsamo de Canadá (Moreno et al., 2011).

Los ectoparásitos fueron identificados siguiendo claves y descripciones taxonómicas específicas para cada grupo de parásitos. Para las pulgas se utilizó Hopkins & Rothschild (1956, 1962, 1966), Johnson (1954), Sánchez et al. (2012), Sánchez y Lareschi (2014) y López Berrizbeitia et al. (2015); para los ácaros, Brennan & Goff (1977), Furman (1972) y Radovsky (2010); para los piojos, las claves de Castro (1982), Castro & González (1997) y Gómez (1998); y para las garrapatas, Keirans & Clifford (1978), Barros-Battesti et al. (2013), Guglielmone et al. (2004) y Nava et al. (2017).

### **Estimación de los descriptores parasitológicos y diversidad de ectoparásitos en *Rattus rattus***

Con la identificación de los parásitos realizada, para cada roedor capturado se realizaron estimaciones de descriptores parasitológicos. La abundancia se consideró como el número total de ectoparásitos de cada especie presente en el roedor. Con estos datos, se calcularon varios descriptores parasitológicos.

En primer lugar, se estimó la abundancia media de infección (AM) para cada especie de ectoparásito, dividiendo el número total de ectoparásitos de una especie entre el número total de hospedadores examinados. Luego se estimó la intensidad media (IM), dividiendo el número

total de ectoparásitos de una especie con el número total de hospedadores parasitados. De esta manera, se obtuvo una media de la cantidad de parásitos de cada especie presentes en cada roedor (Bush et al., 1997). La prevalencia (P%) se calculó como el porcentaje de hospedadores que estaban parasitados por cada especie de ectoparásito. Para ello, se dividió el número de roedores parasitados por el número total de hospedadores examinados, y luego se multiplicó por 100 para expresar el resultado en términos de porcentaje.

Se calcularon la AM, IM y P, utilizando el programa Quantitative Parasitology 3.0. Se realizaron comparaciones entre estaciones y zonas de antropización, para esto se aplicó una prueba de bootstrap-t (se utiliza para comparar medias entre dos grupos de datos), para comparar la P% entre distintas zonas de antropización, se empleó una prueba t exacta de Fisher.

Debido a la baja cantidad de muestras y a la falta de diferencias significativas entre estaciones en cuanto a la presencia de ectoparásitos, se decidió agrupar las estaciones. Este agrupamiento se realizó considerando los ectoparásitos que afectan al mismo tipo de animal.

Para la AM, IM y P, se calcularon los intervalos de confianza al 95% con el método de bootstrap (2.000 réplicas), que consiste en un muestreo aleatorio con reemplazo para obtener una distribución de los resultados y así establecer los límites de confianza (Rózsa et al., 2000).

Por último, se estimó la diversidad mediante el índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), el cual se utiliza para medir la biodiversidad específica. Este índice toma en cuenta tanto la riqueza de especies como su abundancia relativa en la comunidad de hospedadores (Begon et al., 1987; Moreno, 2001). La diversidad fue comparada entre zonas de antropización mediante un test de Kruskal-Wallis con el programa Past. Para el análisis estadístico, sólo se incluyeron las especies con más de 10 individuos. Esto supuso la inclusión de *L. segnis*, *S. ares*, *N. fascistas* y *N. pardinasi* en los procedimientos analíticos.

### **Detección de las bacterias *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella***

#### ***Extracción de ADN y análisis de PCR***

Los ectoparásitos recolectados, se sometieron a extracción de ADN individualmente dependiendo de la categoría del parásito. El ADN fue extraído utilizando el kit comercial DNeasy Blood & Tissue® (Qiagen, ciudad, país) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Cabe destacar que se utilizó el mismo kit para todos los ectoparásitos. Para la extracción de ADN se seleccionaron siete pulgas por hospedero y cuando el número de pulgas por hospedero fue menor a siete se analizaron todas las pulgas. Por su parte, las pulgas se cortaron por la mitad, entre los tergitos tres y cuatro con un bisturí estéril, luego fue extraído el ADN de ambas partes, posteriormente se recuperó el exoesqueleto para su identificación (Moreno et al., 2020). En cuanto a las garrapatas adultas (n= 24), la extracción se realizó individualmente, mientras que las ninfas se agruparon (1-10 por pool) por hospedador, totalizando 41 pools en total; las larvas totalizaron 25 pools. Las muestras se lavaron, previa disección, en buffer PBS. Las garrapatas adultas y ninfas fueron cortadas por la mitad, dividiendo en lado izquierdo y derecho para tener todas las estructuras para la extracción de ADN y la región anterior se utilizó para su identificación. Para el caso de larvas de garrapatas se maceró el idiosoma y gnatosoma completo (Moreno et al., 2020).

Por otro lado, los ácaros y piojos fueron identificados previamente a la extracción de ADN mediante microscopio de epifluorescencia, luego agrupados de 1 a 10 individuos de la misma especie (“pool”) y macerados completamente para la extracción de ADN. En estos casos se consideró la presencia o ausencia de bacteria en el pool completo y no en el individuo.

Todas las muestras de ADN obtenidas fueron almacenadas en ultrafreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Las concentraciones de ADN obtenido fueron cuantificadas mediante el uso de espectrofotómetro Nanodrop™ 2000 (Thermo Fisher™) obteniéndose valores de entre 50 y 200 ng/ $\mu\text{l}$  de ADN.

Se llevó a cabo un screening inicial mediante la técnica de PCR en tiempo real (qPCR) con SYBR Green, para determinar la presencia de *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. y *Coxiella burnetii*. Posteriormente, para la caracterización molecular detallada de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp., se empleó un PCR convencional (cPCR), seguido del secuenciamiento de los productos amplificados. Se realizó la amplificación del gen endógeno para el ADN de todos los ectoparásitos mediante PCR convencional para la detección de ADN eucariótico del ARNr 18S, utilizando las siguientes secuencias de primers: F-573: CGC GGT AAT TCC AGC TCC A y R-1200: CCC GTG TTG AGT CAA ATT AAG C (Hadziavdic et al., 2014).

Para la detección del ADN de *Bartonella* spp., *Rickettsia* spp. y *C. burnetii*, las muestras de ectoparásitos se procesaron por duplicado para la qPCR. Los ciclos se realizaron en el termociclador CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, Hércules, CA, EE.UU.) utilizando placas PCR Low-Profile Multiplate™ (BioRad©, Hércules, CA). La eficiencia de amplificación se calculó a partir de la pendiente de la curva estándar en cada

ejecución utilizando la siguiente fórmula ( $E = 10^{-1/\text{pendiente}}$ ). Los números de copias se estimaron utilizando diluciones en serie de 10 veces de gBlock® (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA, EE. UU.) que codifica *nuoG* para *B. henselae*, *gltA* para *Rickettsia* sp. y elemento IS1111 para secuencias de *C. burnetii*. El número de copias de gBlock® se determinó según la fórmula  $(X \text{ g}/\mu\text{L de ADN}/[\text{gLongitud del bloque en pb} \times 660]) \times 6,022 \times 10^{23} \times \text{gBlock copias}/\mu\text{L}$ . ADN de *B. henselae*, *R. felis* y *C. burnetii* se utilizaron como control positivo. Todas las ejecuciones de PCR se realizaron con agua libre de nucleasas (Thermo Scientific®, Waltham, MA, EE. UU.) como control negativo. Se volvieron a analizar las réplicas que mostraban una diferencia de C<sub>q</sub> (ciclo de cuantificación) superior a 0,5. Las muestras duplicadas con una diferencia de C<sub>q</sub> inferior a 0,5 se consideraron resultados "consistentes".

Para la detección de *Bartonella* spp., se realizó en primera instancia una qPCR para amplificar un fragmento del gen *nuoG* (Colborn et al., 2010). Las condiciones de ciclado para la amplificación de *nuoG* por qPCR de ADN procedente de todos ectoparásitos analizadas para los genes *rpoB* (subunit RNA polymerase) y región intergénica *ITS*, la metodología de estos análisis se describen más adelante en el texto.

Para la *Rickettsia* spp., se realizó qPCR para amplificar un fragmento del gen *gltA* de acuerdo con el protocolo de Stenos et al. (2005), con algunas modificaciones. La qPCR amplificó *gltA* con ciclos a 95 °C durante 1 minuto, seguidos de 40 ciclos a 95 °C durante 15 segundos y 60 °C durante 1 minuto. Luego se realizó una PCR para las muestras positivas utilizando los genes *gltA* (citrito sintasa), *ompA* (genes de proteínas externas de membrana) y *ompB*, la metodología de estos análisis se describe más adelante en el texto.

La detección específica de *C. burnetii* se llevó a cabo sólo en garrapatas utilizando el gen *icd* (De Bruin et al., 2011). El ciclo incluyó 95°C durante 10 minutos, seguido de 45 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 30 segundos. Es importante señalar que la ausencia de *Coxiella* en algunos ectoparásitos no es infrecuente, ya que los piojos, por ejemplo, no son los principales transmisores de *Coxiella* (Reeves et al., 2006), aunque la transmisión por estos ectoparásitos no es imposible, como ocurre con las pulgas (Loftis et al., 2006) y los ácaros (Diarra et al., 2020). Por lo tanto, no se realizaron pruebas para detectar *Coxiella* en otros ectoparásitos, debido a su conocida asociación con las garrapatas (Muhammad et al., 2023).

## Prevalencia de ADN de las bacterias evaluadas

Para el cálculo de la frecuencia de presentación (porcentaje de muestras positivas a ADN de bacterias) de *Bartonella* y *Rickettsia* en cada grupo de ectoparásitos y en cada zona con diferente grado de antropización, se consideró positiva la detección de ADN de bacterias cuando se amplificó al menos uno de los tres genes específicos utilizados para cada bacteria. Para *Bartonella*, los genes amplificados fueron *gltA*, *ITS* y *rpoB*, mientras que para *Rickettsia* se amplificaron *gltA*, *OmpA* y *OmpB*.

## Estimación de la diversidad y la cercanía filogenética de bacterias detectadas con grupos de bacterias potencialmente patógenas.

Las muestras positivas a la qPCR para *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. se analizaron luego por PCR convencionales en el termociclador C1000 Touch™ Thermal Cycler (BioRad, Hercules, CA, USA). Para *Bartonella* spp., la PCR se realizó utilizando fragmentos de los genes *gltA* (citrato sintasa), *rpoB* (subunit RNA polymerase) y región intergénica *ITS* (16S-23S rRNA) (Pitulle et al., 2002; Maggi & Breitschwerdt, 2005; Paziewska et al., 2011; Moreno et al., 2019; Muller et al., 2020). La PCR para *Rickettsia* spp. se realizó utilizando los genes *gltA* (citrato sintasa), *ompA* (genes de proteínas externas de membrana) y *ompB* (gen de proteína externa de membrana) (Chitanga et al., 2021). Los detalles de cebadores y tamaño de fragmento amplificado para cada gen se encuentran en la Tabla 2.

Tabla 2. Genes y cebadores utilizados para la caracterización molecular de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. en PCR convencional.

Agente	Gen	Primer	Secuencia Nucleotídica (5'---3')	Referencia
<i>Bartonella</i> spp.	<i>gltA</i> (767 bp)*	CS443f	(5'-GATCYTCAATCATCTTTCCA-3')	Pitulle et al., 2002
		Cs1210r	(5'-GATCYTCAATCATTCTTTCCA-3')	
	<i>rpoB</i> (333 bp)*	rpoBF	(5'-GCACGATTYGCATCATCATTTTCC-3')	Paziewska et al., 2011
		rpoBR	(5'-CGCATTATGGTCGTATTTGTCC-3')	
16S-23S rRNA (ITS) (453-717 bp)*	325s	(5'-CTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTYTGGCG-3')	Maggi & Breitschwerdt, 2005	
	1100th	(5'-GAACCGACGACCCCTGCTTGCAAAGCA-3')		
<i>Rickettsia</i> spp.	<i>gltA</i> (401bp)*	CS-78	(5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3')	Labruna et al., 2004
		CS-323	(5'-GCTTCCTTAAAATCAATAAATCAGGAT-3')	

<i>ompA</i> (512 pb)*	Rr190.70p	(5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3')	Regnery et al., 1991
	Rr190.602n	(5'-AGTGCAGCATTGCTCCCCCT-3')	
<i>ompB</i> (475 y 267bp)*	1Rc.rompB.4362p	(5'-GTCAGCGTTACTTCTTCGATGC-3')	Choi et al.,2005
	2Rc.rompB.4836n	(5'-CCGTACTCCATCTTAGCATCAG-3')	
	3Rc.rompB.4496p	(5'- CCAATGGCAGGACTTAGCTACT-3')	
	4Rc.rompB.4762n	(5'- AGGCTGGCTGATACACGGAGTAA-3')	

\*Entre paréntesis se indica el tamaño del producto de PCR en pares de bases

La PCR para el gen *gltA* de *Bartonella* spp. se realizó en una reacción de 10 µl de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,5 µl de cada primer (10 µM), 2 µl de agua NF (Non-sterile Water) y 2 µl de ADN molde. Las condiciones usadas para la amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo a 95°C por 2 min seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 seg, unión de cebadores a 52°C por 30 seg, extensión a 72°C por 1 min, y una extensión final a 72°C por 5 min.

La amplificación de *rpoB* de *Bartonella* spp. se realizó en una reacción de 10 µl de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,5 µl de cada primer (10 µM), 2 µl de agua NF y 2 µl de ADN molde. La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo a 95°C por 5 min seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 45 seg, unión de cebadores a 52°C por 45 seg, una extensión a 72°C por 45 seg. La amplificación se completó por un ciclo adicional a 72°C por 7 min.

La amplificación del ITS de *Bartonella* spp. se realizó en una reacción de 10 µl de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,4 µl de cada primer (10 µM), 2,2 µl de agua NF y 2 µl de ADN molde. La PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo a 95°C por 5 min seguido de 55 ciclos de desnaturalización a 94°C por 15 seg, unión de cebadores a 66°C por 15 seg, una extensión a 72°C por 15 seg. La amplificación se completó por un ciclo adicional a 72°C por 1 min.

La PCR para el gen *gltA* para *Rickettsia* spp. utilizó una reacción de 10 µ de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,5 µl de cada primer (10 µM), 2 µl de agua NF y 2 µl de ADN molde. Las condiciones utilizadas para la PCR fueron: 1 ciclo a 94°C por 5 min seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 94°C por 15 segundos, unión de cebadores a 50°C por 30 segundos, y extensión a 72°C por 30 segundos. La amplificación se completó por una extensión final a 72°C por 5 min.

La PCR para el gen *ompA* para *Rickettsia* spp. utilizó 10 µl de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,3 µl de cada primer (10 µM), 2,4 µl de agua NF y 2 µl de ADN molde. Las condiciones utilizadas para la PCR fueron: 1 ciclo a 94°C por 5 min seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, unión de cebadores a 46°C por 30 segundos, y extensión a 72°C por 40 segundos. La amplificación se completó por una extensión final a 72°C por 5 min.

La PCR anidada para el gen *ompB* se realizó utilizando los cebadores externos (1Rc.rompB.4362p y 2Rc.rompB.4836n) y los cebadores internos (3Rc.rompB.4496p y 4Rc.rompB.4762n). Se utilizó una reacción de 10 µl de volumen conteniendo: 5 µl de 2× Green GoTaq® Green MasterMix (Promega, Madison, WI, USA), 0,5 µl de cada primer (10 µM), 2 µl de agua NF y 2 µl de ADN molde. Las condiciones utilizadas para la primera amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo a 95°C por 5 min seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 seg, unión de cebadores a 54°C por 15 seg, extensión a 72°C por 30 seg, y una extensión final a 72°C por 3 min. Las condiciones de PCR para la segunda amplificación fueron: 1 ciclo a 95°C por 5 min seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 seg, unión de cebadores a 56°C por 15 seg, extensión a 72°C por 30 seg, y una extensión final a 72°C por 3 min.

Solo las muestras positivas que presentaban una intensidad de banda fuerte se purificaron mediante reacción enzimática utilizando ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Thermo Scientific®, Carlsbad, CA, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN purificado se envió a MACROGEN (Seúl, Corea) para su secuenciación por el método de Sanger en un secuenciador automático (analizador genético ABI Prism 310; Applied Biosystem ©/PerkinElmer) para la identificación de especies y posteriores análisis filogenéticos y de haplotipos.

Las secuencias obtenidas de ambas direcciones del cebador se alinearon, se ensamblaron en un contig y se recortaron las secuencias de cada secuencia del cebador utilizando el software MEGA7 (Kumar et al., 2016). Cualquier ambigüedad se comprobó y resolvió manualmente a partir del cromatograma de cada secuencia. Las secuencias limpias fueron analizadas inicialmente por BLASTn a través del algoritmo MegaBLAST del NCBI en línea para verificar su relación con *Bartonella* y *Rickettsia* (Chen et al., 2015; Morguli et al., 2008). Todos los alineamientos de secuencias se realizaron utilizando el algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004). En este estudio se empleó la herramienta BLASTn para comparar las secuencias limpias con

secuencias de ADN almacenadas en bases de datos públicas como NCBI con el fin de identificar similitudes con especies bacterianas conocidas, específicamente *Bartonella* y *Rickettsia*.

### **Análisis de diversidad genética de las bacterias analizadas**

Con el objetivo de comprender la diversidad genética dentro de las poblaciones de *Bartonella* y *Rickettsia* analizadas, se realizó un análisis exhaustivo utilizando herramientas especializadas. La identificación de haplotipos se realizó con DNAsp v6.11.01 (Rozas et al., 2017), lo que nos permitió discernir y catalogar los distintos haplotipos presentes en las secuencias de *Bartonella* y *Rickettsia* obtenidas en nuestro estudio. Estos haplotipos, como conjuntos únicos de variaciones genéticas, proporcionan información valiosa sobre la estructura genética de la población. Además, se implementó la metodología para la construcción de redes de haplotipos utilizando identificadores en R (Paradis, 2010, R-Core Team, 2022). Esta técnica permite visualizar gráficamente las relaciones genéticas entre los haplotipos identificados, proporcionando una representación esclarecedora de cómo estos haplotipos se relacionan entre sí y cómo han evolucionado con el tiempo. Así, para contextualizar las secuencias obtenidas en nuestro estudio, se realizaron alineamientos con los genomas de referencia de *Bartonella* y *Rickettsia* descargados de la base de datos NCBI. Esta comparación permitió identificar similitudes y diferencias entre nuestras muestras y secuencias de referencia, contribuyendo así a situar nuestra investigación dentro del contexto genético más amplio de *Bartonella* y *Rickettsia*. Los fragmentos amplificados y secuenciados se someten a un proceso de eliminación de bases ambiguas o regiones de baja calidad. Posteriormente, se ingresan en la base de datos del NCBI de Estados Unidos, a través de su programa en línea BLASTn. Este programa realiza una comparación local de las secuencias de ADN con toda su base de datos, lo que arroja un porcentaje de identidad y la estadística correspondiente.

Se construyó un árbol filogenético basado en máxima verosimilitud utilizando IQ-TREE2 (Minh et al., 2020), se utilizó la secuencia de *Brucella abortus* como grupo externo y el modelo de mejor ajuste y soporte de arranque basado en 1000 réplicas.

### **Análisis de asociación entre diversidad y prevalencia de bacterias con descriptores parasitológicos**

Para asociar la diversidad y prevalencia de las bacterias con el tipo de localidad, abundancia, diversidad y prevalencia de los ectoparásitos de los distintos grupos, se realizaron Modelos

Lineales Generalizados (MLG), utilizando como variable independiente la presencia o ausencia de ADN de las bacterias en los ectoparásitos, utilizando un modelo binomial; las variables dependientes utilizadas fueron el tipo de localidad, la abundancia, diversidad y prevalencia de cada grupo de ectoparásitos. Se consideraron como significativos los valores de  $p > 0,05$ . Estos análisis fueron realizados en el programa JMP.

## 5. Resultados

### 1) Estimar la prevalencia, abundancia, diversidad de ectoparásitos en *Rattus rattus* en localidades con distinto grado de intervención antrópica en Chile.

Se capturó un total de 411 individuos de la especie *Rattus rattus*, distribuidos en diferentes estaciones (verano: n=188; otoño: n=27; invierno: n=168; primavera: n=28) y localidades (ciudad: n=190; rural: n=64; silvestre: n=157). De estos individuos, se recolectaron 1.328 ectoparásitos, incluyendo piojos (52,48%; n= 697), ácaros (16,94%, n=225), pulgas (16,94%; n=225) y garrapatas (13,63%; n=181) (Tabla 3).

Tabla 3. Descriptores parasitológicos para ácaros, garrapatas, piojos y pulgas en las distintas grado de antropización (ciudad, rural y silvestre). En la tabla se indican los intervalos de confianza (95%) abajo cada valor de prevalencia (P%), abundancia media (AM) e intensidad media (IM), expresado como frecuencia.

Grado de antropización (N localidades)	Número (n) de roedores parasitados y ectoparásitos, e índices parasitológicos	Ácaros	Garrapatas	Piojos	Pulgas
<b>Ciudad (10)</b>	n ratones parasitados	23	23	41	42
	n ectoparásitos	87	53	163	95
	P%	12,1	12,1	21,6	22,6
	IC95%	(0,08-0,18)	(0,08-0,18)	(0,17-0,9)	(0,16-0,28)
	AM	0,46	0,28	0,86	0,50
	IM	(0,25-0,90)	(0,17-0,52)	(0,54-1,32)	(0,29-0,61)
<b>Rural (7)</b>	n ratones parasitados	8	11	11	17
	n ectoparásitos	11	38	96	61
	P%	12,5	17,2	17,2	26,6
	IC95%	(0,06-0,24)	(0,10-0,30)	(0,09-0,29)	(0,05-0,15)
	AM	0,17	0,59	1,50	0,95
	IM	(0,06-0,40)	(0,24-1,42)	(0,58-3,87)	(0,17-0,64)
		1,38	3,45	8,73	3,59

		(1-1,75)	(1,82-7,45)	(4,27-18,45)	(2,40-5,73)
<b>Silvestre (10)</b>	n ratones parasitados	32	42	68	30
	n ectoparásitos	127	90	438	69
	P%	20,4	26,8	43,3	19,1
		(0,14-0,27)	(0,03-0,05)	(0,36-0,51)	(0,14-0,26)
	AM	0,81	0,57	2,79	0,44
		(0,48-1,39)	(0,05-0,11)	(2,03-3,91)	(0,28-0,64)
	IM	3,97	2,14	6,44	2,30
		(2,69-6,31)	(1,71-2,81)	(4,97-8,49)	(1,73-2,93)

La abundancia de ácaros y piojos fue significativamente mayor en las estaciones de invierno y verano, que en otoño y primavera (ácaros:  $n=225$ ,  $p=0,0048$ ; piojos:  $n=697$ ,  $p=0,0052$ ). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la abundancia de garrapatas y pulgas entre las estaciones (garrapatas:  $n=181$ ,  $p=0,83$ ; pulgas:  $n=225$ ,  $p=0,23$ ) (Tabla 4).

Tabla 4. Número de ectoparásitos (ácaros, garrapatas, piojos y pulgas) recolectados por cada estación.

Ectoparásitos	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Total
Ácaros	70	28	111	16	225
Garrapatas	108	9	56	8	181
Piojos	310	34	277	76	697
Pulgas	73	26	115	11	225

En cuanto a los piojos, se identificaron las especies *Polyplax spinulosa* (Polyplacidae) ( $n=672$ ) y *Hoplopleura travassosi* (Hoplopleuridae) ( $n=1$ ), siendo *P. spinulosa* la más abundante y prevalente, especialmente en zonas silvestres en comparación con las zonas rurales y urbanas (Tabla 6). Las mayores prevalencias de esta especie estuvieron en las zonas silvestres, con respecto a las zonas rurales ( $p=0,0001$ ) y ciudades ( $p=0,001$ ), no hubo diferencias entre zonas rurales y ciudad ( $p=0,48$ ). También se encontró que las abundancias e intensidades medias fueron mayores en zonas silvestres, con respecto a las ciudades (AM:  $p=0,001$ ; IM:  $p=0,002$ ), pero no se encontraron diferencias entre las zonas silvestres y rurales (AM:  $p=0,1$ ; IM:  $p=0,65$ ) y entre zonas rurales y ciudades (AM:  $p=0,37$ ; IM:  $p=0,26$ ).

En el caso de los ácaros, las especies *Ornithonyssus* sp. ( $n=161$ ), *Laelaps* sp. ( $n=17$ ) y Trombidiformes ( $n=12$ ) fueron recolectadas (Tabla 6). La especie *Ornithonyssus* sp. fue la más abundante y prevalente, pero no se encontraron diferencias significativas entre las zonas silvestres y rurales (AM:  $p=0,07$ ; P%:  $p=0,13$ ; IM:  $p=0,12$ ), silvestres y ciudades (AM:  $p=0,2$ ; P%:  $p=0,07$ ; IM:  $p=0,74$ ) y ciudad y rural (AM:  $p=0,1$ ; P%:  $p=0,8$ ; IM:  $p=0,08$ ). Tampoco se

encontraron diferencias significativas para la especie *Laelaps* sp. entre las zonas silvestres y rurales (AM:  $p=0,9$ ; P%:  $p=0,7$ ; IM:  $p=0,12$ ), silvestres y ciudades (AM:  $p=0,5$ ; P%:  $p=1$ ; IM:  $p=0,3$ ) y ciudad y rural (AM:  $p=0,5$ ; P%:  $p=0,7$ ; IM:  $p=0,3$ ). Por último, los ácaros Trombidiformes no mostraron diferencias en ninguno de los estimadores parasitológicos entre las zonas silvestres y rurales (AM:  $p=0,09$ ; P%:  $p=0,1$ ; IM:  $p=1$ ), silvestres y ciudades (AM:  $p=0,7$ ; P%:  $p=0,3$ ; IM:  $p=0,5$ ) y ciudad y rural (AM:  $p=0,4$ ; P%:  $p=0,5$ ; IM:  $p=1$ ).

Con respecto a las garrapatas, solo se identificó *Ixodes sigelos* (n=173) y larvas de *Ornithodoros* sp. (n=3) (Tabla 6). No se observaron diferencias para *I. sigelos* entre zonas silvestres y zonas rurales (AM:  $p=0,9$ ; P%:  $p=0,2$ ; IM:  $p=0,4$ ) y tampoco con zonas silvestres y ciudades (AM:  $p=0,4$ ; P%:  $p=0,3$ ; IM:  $p=0,5$ ) y ciudad y rural (AM:  $p=0,4$ ; P%:  $p=0,3$ ; IM:  $p=0,5$ ).

En cuanto a las pulgas, se recolectaron 17 especies: *Ctenoparia inopinata* (n=1), *Ctenoparia jordani* (n=1), *Delosticus coxalis* (n=6), *Delosticus smiti* (n=1), *Echidnophaga gallinacea* (n=5), *Hectopsylla* sp. (n=1), *Leptopsylla segnis* (n=55), *Neotyphloceras chilensis* (n=3), *Neotyphloceras pardinasi* (n=25), *Nosopsyllus fasciatus* (n=62), *Plocopsylla* spp. (n=5), *Plocopsylla wolffsohni* (n=1), *Sphinctropsylla ares* (n=44), *Pulex irritans* (n=4), *Tetrapsyllus rhombus* (n=2), *Tetrapsyllus* spp. (n=6) y *Xenopsylla cheopis* (n=5) (Tabla 6).

*Leptopsylla segnis* fue la especie más prevalente en áreas rurales en comparación con áreas silvestres y ciudades, entre las cuales no hubo diferencias significativas (P%:  $p=0,6$ ; AM:  $p=0,1$ ; IM:  $p=0,1$ ). Sin embargo, no hubo diferencias en abundancia e intensidad media entre áreas rurales y silvestres (AM:  $p=0,07$ ; IM:  $p=0,1$ ) o entre áreas rurales y ciudades (AM:  $p=0,08$ ; IM:  $p=0,3$ ).

Para *N. fasciatus* se identificó una mayor prevalencia y abundancia media en la ciudad en comparación con las áreas silvestres (P%:  $p=0,001$ ; AM:  $p=0,005$ ). Aunque, la prevalencia fue mayor en áreas silvestres en comparación con las áreas rurales (P%:  $p=0,003$ ). Sin embargo, no hubo diferencias en la intensidad media entre ciudades y áreas silvestres (IM:  $p=0,2$ ), ni entre ciudades y áreas rurales para ninguno de los descriptores parasitológicos (P%:  $p=0,8$ ; AM:  $p=0,7$ ; IM:  $p=0,9$ ). Entre áreas rurales y silvestres no se encontraron diferencias significativas en abundancia (MA:  $p=0,15$ ) ni en la intensidad media (IM:  $p=0,67$ ).

En el caso de *S. ares*, se encontró una mayor prevalencia y diferencias entre la ciudad y las zonas silvestres (P%:  $p=0,001$ ; AM:  $p=0,02$ ; IM:  $p=0,01$ ), y hubo diferencias entre la intensidad media de la ciudad y las zonas rurales (P%:  $p=0,1$ ; AM:  $p=0,2$ ; IM:  $p=0,000$ ). No

se encontraron diferencias significativas entre las zonas rurales y las silvestres (P%:  $p=0,4$ ; AM:  $p=0,1$ ; IM:  $p=0,2$ ). La intensidad media fue mayor en las zonas silvestres, sin diferencias significativas ( $p=1$ ).

Para *N. pardinasi*, se observó una mayor prevalencia y diferencias entre las zonas rurales y ciudad (P%:  $p=0,005$ ; AM:  $p=0,08$ ; IM:  $p=0,4$ ), y no hubo diferencias con las zonas silvestres (P%:  $p=0,006$ ; AM:  $p=0,14$ ; IM:  $p=0,08$ ). Entre la ciudad y las zonas silvestres no se encontraron diferencias significativas (P%:  $p=1,000$ ; AM:  $p=0,8$ ; IM:  $p=0,6$ ). La intensidad media mostró diferencias significativas ( $p=0,01$ ).

Las otras especies de pulgas recolectadas presentaron una baja representación por Grado de antropización, entre 1 y 6 individuos, por lo que no fue posible realizar análisis estadísticos para evaluar diferencias entre zonas (Tabla 5).

Tabla 5. Índices parasitológicos para las distintas zonas de antropización por especie y grupo de ectoparásito. Al lado derecho de cada valor se indica entre paréntesis el intervalo confianza (95%). AM: abundancia media, P%: Prevalencia, IM: Intensidad media, Antr.: Grado de antropización, C: Ciudad, R: Rural, S: Silvestre.

	<b>Especie de ectoparásito</b>	<b>Antr.</b>	<b>N</b>	<b>AM</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>P(%)</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>IM</b>	<b>IC (95%)</b>
<b>Ácaros</b>	<i>Ornithonyssus</i> sp.	C	58	33%	(20-60)	10%	(6-15)	3,4	(2,3-5,6)
		R	8	13%	(3-30)	8%	(3-17)	1,6	(1-2)
		S	97	64%	(40-130)	17%,	(11-23)	3,9	(2-7)
	<i>Laelaps</i> sp.	C	8	8%	(3-20)	4%	(2-8)	2	(1,4-3,3)
		R	2	5%	(0-11)	5%	(1-13)	1	(0)
		S	8	5%	(1-10)	4%	(2-8)	1,3	(1-1,7)
	Trombidiformes	C	2	4%	(1-20)	2%	(0-5)	2,6	(1-4,3)
		R	0	0	-	0	-	0	-
		S	10	6%	(2-12)	4%	(2-08)	1,5	(1-2,2)
<b>Garrapatas</b>	<i>Ixodes sigelos</i>	C	53	0,31	(0,18-0,54)	12%	(8-17)	2,6	(1,8-4,2)
		R	38	0,59	(0,22-1,5)	17%	(10-30)	3,5	(1,7-6,7)
		S	82	0,52	(0,35-0,75)	24%	(40-50)	6,4	(5-8,6)
	<i>Ornithodoros</i> sp.	C	0	0	-	-	-	-	-
		R	0	0	-	-	-	-	-
		S	3	0,02	(0-0,06)	1%	(0-5)	1,5	(1-1,5)
<b>Piojos</b>	<i>Polyplax spinulosa</i>	C	153	0,82	(0,5-1,25)	22%	(20-30)	3,8	(2,7-5,5)
		R	96	1,5	(0,5-4,1)	17%,	(10-30)	8,73	(4,3-18,8)
		S	438	2,8	(2-3,9)	43%	(5-1)	1-8	(0-13,1)
	<i>Hoplopleura travassosi</i>	C	1	0,01	(0-0,02)	5%	(0-3)	1	(0)
		R	0	0	-	0	-	0	-
S	0	0	-	0	-	0	-		
<b>Pulgas</b>	<i>Ctenoparia inopinata</i>	C	1	0,01	(0-0,02)	50%	(0-3)	1	0

	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	0	0	-	0	-	0	-
<i>Ctenoparia jordani</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	1	0,01	(0-0,02)	60%	(0-4)	1	0
<i>Delosticus coxalis</i>	C	0	0	-	0	-	0	0
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	6	0,04	(0-0,10)	1,30%	(0-5)	3	0
<i>Delosticus smiti</i>	C	1	0,01	(0-0,02)	50%	(0-3)	1	0
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	0	0	-	0	-	0	-
<i>Echidnophaga gallinacea</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	5	0,02	(0-0,05)	1,60%	(0-8)	1	0
	S	0	0	-	0	-	0	-
<i>Hectopsylla sp.</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	1	0,01	(0-0,02)	0,60%	(0-4)	1	0
<i>Leptopsylla segnis</i>	C	19	0,1	(0,04-0,2)	5%	(3-9)	1,9	(1,2-2,6)
	R	34	0,53	(0,25-1)	19%	(10-30)	2,83	(1,8-4,8)
	S	2	0,01	-0,75	1%	(0-40)	1	0
<i>Neotyphloceras chilensis</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	3	0,05	(0-0,14)	3%	(0-10)	1,5	(1-1,5)
	S	0	0	-	0	-	0	-
<i>Neotyphloceras pardinasi</i>	C	8	0,04	(0,01-0,11)	3%	(1-6)	1,6	(1-2,2)
	R	9	0,13	(0,5-0,20)	13%	(6-23)	1	0
	S	8	0,05	(0,01-0,12)	2,50%	(0-70)	2	(1-2,5)
<i>Nosopsyllus fasciatus</i>	C	46	0,24	(0,15-0,4)	13%	(8-18)	1,9	(1,5-2,4)
	R	13	0,2	(0,08-0,45)	11%	(5-20)	1,9	(1,14-3,14)
	S	3	0,02-	(0-0,08)	1%	(0-5)	1,5	(1-1,5)
<i>Plocopsylla sp.</i>	C	3	0,02	(0-0,04)	2%	(0-5)	1	0
	R	0	0	-	0	-	0	-

	S	2	0,01	(0-0,03)	1%	(0-5)	1	0
<i>Plocopsylla wolffsohni</i>	C	1	0,01	(0-0,02)	0,50%	(0-3)	1	0
	R	0	0	-	0		0	-
	S	0	0	-	0		0	-
<i>Sphinctopsylla ares</i>	C	2	0,01	-0,03	1%	(0-4)	1	0
	R	6	0,09	(0-0,19)	5%	(1-13)	2	0
	S	36	0,23	(0,1-0,4)	9%	(5-15)	2,6	(1,6-3,5)
<i>Pullex irritans</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	4	0,03	(0-0,06)	2%	(0-6)	1,3	(1-1,7)
<i>Tetrapsyllus rhombus</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	2	0,01	(0-0,03)	1%	(0-5)	1	0
<i>Tetrapsyllus sp.</i>	C	0	0	-	0	-	0	-
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	6	0,04	(0,01-0,08)	3%	(2-70)	1,2	(1-1,4)
<i>Xenopsylla cheopis</i>	C	5	0,03	(0-0,08)	5%	(0-3)	5	0
	R	0	0	-	0	-	0	-
	S	0	0	-	0	-	0	-

La diversidad de especies de ectoparásitos varió entre 0 y 1,5 en ciudades, entre 0,6 y 1,7 en zonas rurales; y entre 0,5 y 1,7 en zonas silvestres. No se encontraron diferencias entre las distintas zonas de antropización analizadas respecto a la diversidad ( $p=0,48$ ).

## **2) Estimar la prevalencia de bacterias *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella* en los ectoparásitos de *Rattus rattus* en zonas con distinta intervención antrópica.**

Se detectó y se cuantificó el ADN de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. para los cuatro grupos de ectoparásitos (ácaros, garrapatas, piojos y pulgas) (Tabla 7). *Coxiella burnetii* fue analizada solamente para garrapatas y todas las muestras resultaron negativas a la detección de esta bacteria.

La evaluación de la presencia de ADN de *Bartonella* spp. en piojos se realizó mediante qPCR (media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 107,2%/1,02;  $r^2 = 0,99$ ; slope = 3,15), donde se evaluaron 99 pools (mediana  $\pm$  desviación estándar (DE) de la concentración de ADN = 2,78 $\pm$ 5,60 ng/uL; media 260/280 = 2,79), de los cuales 33 pools fueron positivos (33,3%; 33/99; [IC del 95 % (20–45%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 9,7  $\pm$ 15,7) y la cuantificación de *Bartonella* spp. (promedio de 1,44 $\times$ 10<sup>2</sup>) osciló entre 1,01 $\times$ 10<sup>1</sup> y 9,5 $\times$ 10<sup>2</sup> *nuoG*-copias/ $\mu$ L. Para *Rickettsia* spp., la misma técnica molecular y número de pool que para *Bartonella* fue utilizada (media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 106,8%/0,7;  $r^2 = 0,99$ ; slope = 3,19), 19 pools fueron positivos (19,2%; 19/99; [IC del 95 % (9–29%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 9,09  $\pm$  13,84) y la cuantificación (promedio de 7,5 $\times$ 10<sup>4</sup>) osciló entre 1,04 $\times$ 10<sup>6</sup> y 9,5 $\times$ 10<sup>2</sup> *nuoG*-copias/ $\mu$ L.

De los 54 pools de ácaros analizados (media y desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 89,4% y 6,7;  $r^2 = 0,98$ ; slope = 3,61; media  $\pm$  desviación estándar (DE) de la concentración de ADN = 2,47 $\pm$  3,38 ng/uL; media 260/280 = 1,78), solo 12 pools fueron positivos a *Bartonella* spp. (22%; 12/54; [IC del 95 % (8–36%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 8,8  $\pm$  15,6) y la cuantificación de *Bartonella* spp. (promedio de 1,3 $\times$ 10<sup>1</sup>) osciló entre 1,0 $\times$ 10<sup>1</sup> y 8,7 $\times$ 10<sup>1</sup> *nuoG*-copias/ $\mu$ L. Para *Rickettsia* (media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 106,2% y 1,2;  $r^2 = 0,98$ ; slope = 3,18) 23 pools fueron positivos (23,2%; 23/54; [IC del 95 % (13–33%)]). Las muestras positivas

tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 15,3  $\pm$ 17,8) y la cuantificación (promedio de  $2,5 \times 10^7$ ) osciló entre  $1,01 \times 10^1$  y  $6,4 \times 10^2$  *nuoG*-copias/ $\mu$ L.

Para las 90 garrapatas analizadas (larvas n=25 pools; adultas n= 24; ninfas n= 41 pools; media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 94,5% y 9,90;  $r^2 = 0,99$ ; slope =3,47; mediana  $\pm$  desviación estándar (DE) de la concentración de ADN = 5,78 $\pm$  12,70 ng/ $\mu$ L; media 260/280= 1,97), 24 fueron positivos a *Bartonella* spp. (26,6%; 24/90; [IC del 95 % (0,14–0,38)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 15,8  $\pm$  18,1) y la cuantificación de *Bartonella* spp. (promedio de  $2,4 \times 10^5$ ) osciló entre  $1,2 \times 10$  y  $8,2 \times 10^1$  *nuoG*-copias/ $\mu$ L. Para *Rickettsia* spp. (media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 96,9% y 4,3;  $r^2 = 0,82$ ; slope =3,44) 22 pools fueron positivos (24,4%; 22/90; [IC del 95 % (13–33%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 8,68  $\pm$ 14,8) y la cuantificación (promedio de  $3,5 \times 10^6$ ) osciló entre  $1,17 \times 10^1$  y  $9,5 \times 10$  *nuoG*-copias/ $\mu$ L.

Un total de 193 pulgas fueron analizadas (media  $\pm$  desviación estándar de la eficiencia de las reacciones = 94,5% y 4,8;  $r^2 = 0,99$ ; slope =3,47; concentración de ADN = 7,1 $\pm$ 13,6 ng/ $\mu$ L; media 260/280 = 2), 103 fueron positivos a *Bartonella* spp. (53,4%; 103/193; [IC del 95 % (44–63%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$ DE=16,3 $\pm$ 16) y la cuantificación de *Bartonella* spp. (promedio de  $6,2 \times 10^8$ ) osciló entre  $1 \times 10^1$  y  $9,1 \times 10^6$  *nuoG*-copias/ $\mu$ L. Para *Rickettsia* (media estándar de la eficiencia de las reacciones = 106% y 7,1;  $r^2 = 0,99$ ; slope =3,19), 97 pulgas fueron positivas (50,3%; 97/193; [IC del 95 % (49–50%)]). Las muestras positivas tenían valores de Cq consistentes (media  $\pm$  DE= 17,3  $\pm$ 18,1) y la cuantificación (promedio de  $3,8 \times 10^4$ ) osciló entre  $1,3 \times 10$  y  $9,4 \times 10^2$  *nuoG*-copias/ $\mu$ L.

La prevalencia de *Bartonella* spp. en el total de ectoparásitos en zonas urbanas fue de 54%, rurales fue de 44%, y para zonas silvestres fue 60%. Por otro lado, para *Rickettsia* spp., las prevalencias en zonas urbanas fueron de 59%, rurales fue de 46%, y para zonas silvestres fue de 56%. La prevalencia de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. no se diferenciaron significativamente con respecto al tipo de localidad (*Bartonella*:  $p=0,06$ ; *Rickettsia*:  $p=0,98$ ). A pesar de esto, se observó relativa variación en las tasas de infección de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. para cada grupo de ectoparásitos por separado. Los piojos procedentes de ciudades mostraron bajas prevalencias de *Bartonella* (14,7%) y *Rickettsia* (5,9%) en comparación a prevalencia en zonas rurales (55,5% y 22,2%) y zonas silvestres (30,4% y 26,8%), respectivamente. Por otro lado, la prevalencia de *Bartonella* más altas fueron

alcanzadas por ácaros y pulgas de zonas rurales (33,3% y 55,9%), y la prevalencia de *Rickettsia* más altas fueron para ácaros de zonas rurales (66,7%) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Muestras analizadas para determinar la presencia de *Bartonella* y *Rickettsia* por cada grupo de ectoparásito en zonas con diferente grado de antropización. Para el cálculo de la prevalencia, se consideró como positiva la detección de ADN de bacteria cuando se detectó al menos uno de los 3 genes positivos (para *Bartonella*: *gltA*, *ITS*, *rpoB*; para *Rickettsia*: *gltA*, *OmpA*, *OmpB*).

Grado de antropización	Grupo de ectoparásito	Muestras analizadas con qPCR (pools: P o individuos: I)	<i>Bartonella</i> % (n)	<i>Rickettsia</i> % (n)
Ciudad	Piojos	34 (P)	14,7 (5)	6 (2)
	Ácaros	23 (P)	13 (3)	43,5 (10)
	Garrapatas	31 (P/I)	19,3 (6)	19,3 (6)
	Pulgas	81(I)	49,3 (40)	50,6 (41)
Rural	Piojos	9 (P)	55,5 (5)	22,2 (2)
	Ácaros	9 (P)	33,3 (3)	66,7 (6)
	Garrapatas	12	25 (3)	16,7 (2)
	Pulgas	59	55,9 (33)	61 (36)
Silvestre	Piojos	56 (P)	30,4 (17)	26,8 (15)
	Ácaros	22 (P)	27,3 (6)	7 (31,8 (7)
	Garrapatas	47 (P/I)	32 (15)	29,8 (14)
	Pulgas	53 (I)	41,5 (22)	37,7 (20)
<b>Total</b>		<b>436</b>	<b>36,2 (158)</b>	<b>36,9 (161)</b>

### 3) Determinar la diversidad haplotípica y la cercanía filogenética de bacterias detectadas con grupos de bacterias potencialmente patógena

Para todas las muestras de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. que fueron positivas a la qPCR mencionadas anteriormente, se amplificó con éxito el ADN mediante PCR convencional (Tabla 7).

Tabla 7. Número de muestras analizadas y positivas a *Bartonella* y *Rickettsia* mediante PCR real time (qPCR) y convencional (cPCR).

Grupo de ectoparásito	<i>Bartonella</i>				<i>Rickettsia</i>			
	Pulgas	Ácaros	Piojos	Garrapatas	Pulgas	Ácaros	Piojos	Garrapatas
muestras positivas para qPCR	53% (103/193)	22% (12/54)	33% (33/99)	27% (24/90)	50% (97/193)	43% (23/54)	19% (19/99)	24% (22/90)
muestras analizadas para cPCR	103	12	33	24	97	23	19	22
muestras positivas para cPCR ( <i>gltA</i> )	12	0	0	0	23	0	0	1
muestras positivas para cPCR ( <i>ITS</i> para <i>Bartonella</i> , <i>OmpA</i> para <i>Rickettsia</i> )	55	9	19	12	0	0	0	0
muestras positivas para cPCR ( <i>rpoB</i> para <i>Bartonella</i> , <i>OmpB</i> para <i>Rickettsia</i> )	35	0	6	2	53	15	11	11
muestras enviadas a secuenciar	37	5	18	8	34	11	4	9

Se sometieron a secuenciación un total de 68 amplicones que incluyeron los 3 loci (10 *gltA*; 35 *rpoB*; 23 *ITS*) para *Bartonella* sp. De estos, 30 proporcionaron secuencias de buena calidad (Tabla 9). Los 38 amplicones restantes produjeron secuencias directas o amplificación cruzada con otras bacterias, lo que impidió su uso posterior. Las secuencias obtenidas que fueron identificadas como *Bartonella* y *Rickettsia*, se depositaron en la base de datos internacional GenBank (Tabla 8). Estas secuencias se compararon usando nBLAST y los mejores resultados se usaron para determinar el porcentaje de identidades (Tabla 9). Las secuencias se depositaron en GenBank para *Bartonella*, los números de acceso **PP151229 - PP151235** (secuencias *gltA*), **PP151219- PP151228** (secuencia *rpoB*) y **PP150442- PP150444** (secuencias *ITS*). Para *Rickettsia*, los números de acceso **PP151242** (secuencias *gltA*) y **PP151236 -PP151241** (secuencias *ompA*).

Tabla 8. Secuenciaciones de productos de *Bartonella* spp. extraídos de ectoparásitos, con su identidad cercana a BLASTn por locus objetivo.

<i>Bartonella</i>				
Gen	Ocurrencia	Identidad por BLASTn	Similitud (%)	Números de acceso a GenBank
<i>gltA</i> (n = 9)	5	<i>Bartonella</i> sp. <i>gltA</i> gene (strain C1phy)	95-98,95	Z70022.1
	1	<i>Bartonella</i> sp. 1-1C chromosome, complete genome	97,31	CP019489.1
	1	<i>Bartonella tribocorum</i> isolate Jize-Aa8 citrate synthase ( <i>gltA</i> ) gene, partial cds (bad naming)	99,28	OP382446.1
	2	<i>Bartonella tribocorum</i> isolate B1 citrate synthase ( <i>gltA</i> ) gene, partial cds	100	OQ191804.1
<i>ITS</i> (n = 5)	4	Uncultured <i>Bartonella</i> sp. clone B47 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	95,23-100	OQ190409.1
	1	<i>Bartonella tribocorum</i> isolate B1 16S-23S ribosomal RNA intergenic spacer, partial sequence	99,81	OQ190411.1
<i>rpoB</i> (n = 16)	2	<i>Bartonella coopersplainsensis</i> isolate THCTIR101 RNA polymerase beta subunit ( <i>rpoB</i> ) gene, partial cds	100	MF105900.1
	1	<i>Bartonella doshiae</i> RNA polymerase beta subunit ( <i>rpoB</i> ) gene, partial cds	92,81	AF165991.1
	7	Uncultured <i>Bartonella</i> sp. clone Huadu-52 RNA polymerase beta-subunit ( <i>rpoB</i> ) gene, partial cds	99,07	ON394035.1
	1	Uncultured <i>Bartonella</i> sp. clone B50 RNA polymerase beta-subunit ( <i>rpoB</i> ) gene, partial cds	95,33	GU338939.1
	3	<i>Bartonella</i> sp. EN2-1 <i>rpoB</i> gene for RNA polymerase beta subunit, partial cds	93,77-95,33	LC596945.1
	1	<i>Bartonella</i> sp. 1-1C chromosome, complete genome	98,13	CP019489.1
	1	<i>Bartonella tribocorum</i> strain SD-15 RNA polymerase beta subunit ( <i>rpoB</i> ) gene, partial cds	100	MH748138.1

Se obtuvo un total de 58 secuencias para *Rickettsia* que incluyeron los 3 loci (7 *gltA*; 0 *ompA*; 51 *ompB*), las que fueron secuenciadas en su totalidad, obteniéndose 32 secuencias de buena calidad (Tabla 9).

Tabla 9. Secuenciaciones de productos de *Rickettsia spp.* extraídos de ectoparásitos, con su identidad cercana a BLASTn por locus objetivo.

<i>Rickettsia</i>				
Gen	Ocurrencia	Identidad por BLASTn	Similitud (%)	Números de acceso a GenBank
<i>gltA</i> (n = 1)	1	<i>Rickettsia</i> sp. clon LIC 6759A gen de citrato sintasa ( <i>gltA</i> ), cd parcial	99,71	KY753118.1
<i>ompB</i> (n = 31)	1 30	<i>Rickettsia felis</i> cepa SwCsv09 gen de la proteína B de la membrana externa ( <i>ompB</i> ), cd parcial Gen de la proteína B de la membrana externa de <i>Rickettsia felis</i> ( <i>ompB</i> ), cd parcial	99,12 100	GU182892.1 MN267050.1

Las secuencias de *Bartonella* identificadas con la amplificación de una región del gen de la subunidad  $\beta$  de la ARN polimerasa (*rpoB*; n = 16) se ubicaron en cuatro clados diferentes, pertenecientes a dos linajes de *Bartonella* (III y IV, según Engel et al., 2011), según los análisis filogenéticos (Fig. 2). El primer clado albergó una secuencia cercanamente relacionada a *B. tribocorum* detectada de una pulga en Puerto Aysén, la cual presentó una identidad de 100% a la secuencia extraída de una cepa de la misma especie aislada de sangre humana en Francia (cepa BM1374166). El segundo clado reunió secuencias no identificadas anteriormente, obtenidas de pulgas de la R. N. Nonguén (Silvestre), P. N. Fray Jorge (Silvestre), Sotaqui (Rural) y Monte Patria (Ciudad), las cuales mostraron cercanía filogenética a *Bartonella coopersplainsensis* (97% identidad). El grupo de secuencias provenientes de pulgas de R. N. Nonguén estuvieron relacionadas con *B. doshiae*, mientras que aquellas del resto de localidades en Chile mostraron un 99% de similitud con una cepa no cultivada (Huadu-52, ON394035.1) de *Bartonella*. Otras secuencias del mismo estudio fueron 100% idénticas a *B. coopersplainsensis*, obtenidas de piojos provenientes del P.N. La Campana (Silvestre) y Sierra de Bellavista (Rural). El tercer clado agrupó a secuencias no antes identificadas, obtenidas de pulgas de las localidades Illapel (Ciudad) y R. N. Isla Mocha (Silvestre), las cuales se encontraron asociadas a *B. alsatica* (95% identidad). Finalmente, el cuarto clado consistió en

una cepa no identificada, aislada de una pulga en Iquique (Ciudad), la cual presentó un alta similitud con *B. rochalimae* y *Bartonella* sp. 1-1C (CP019489.1) (Fig. 2)

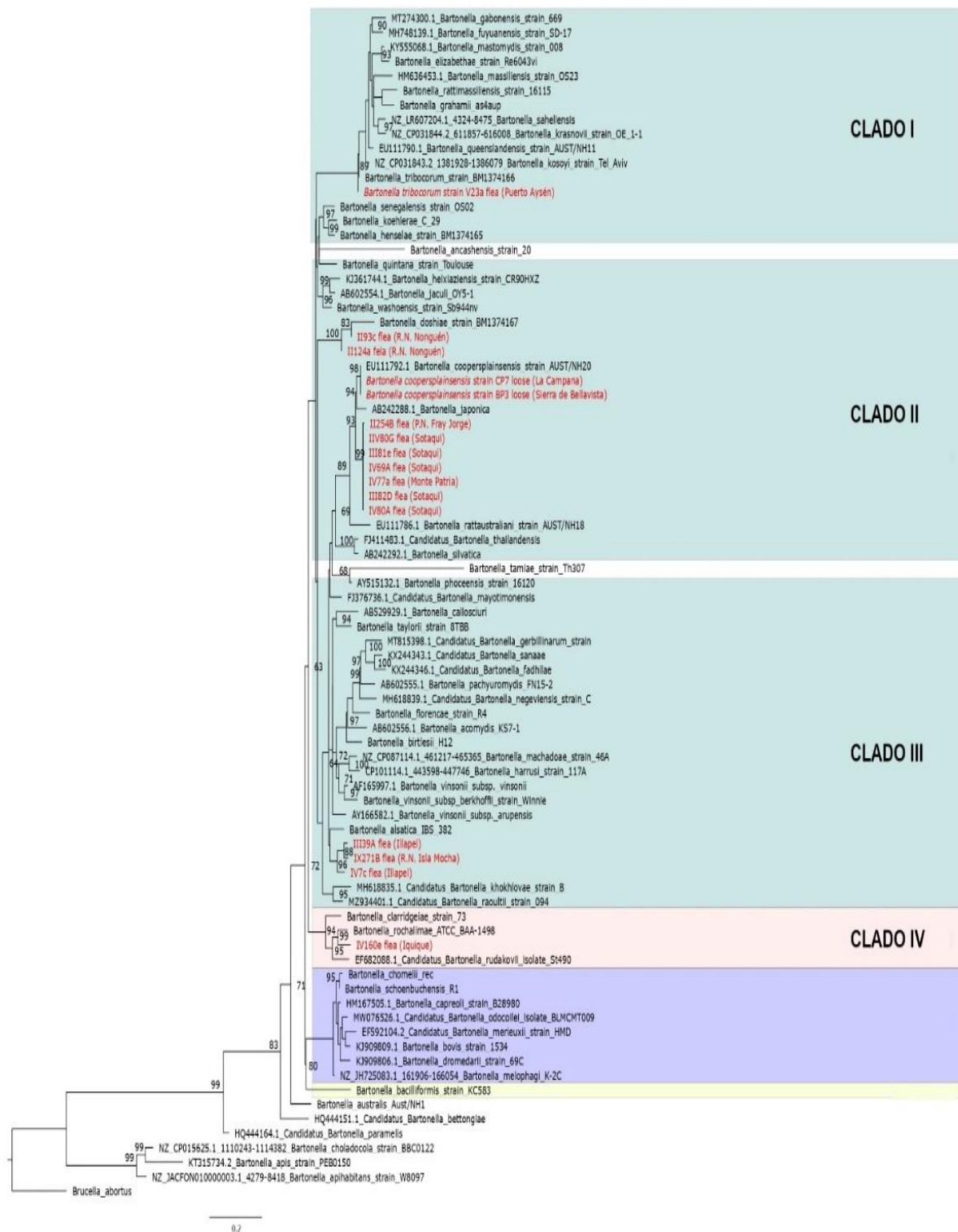


Figura 2. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de *Bartonella* basado en la región *rpoB* (resaltadas en rojo). Dichas secuencias fueron obtenidas de ectoparásitos en *Rattus rattus* de diversas

localidades en Chile. De un total de 35 secuencias obtenidas, tan solo 16 tuvieron una calidad aceptable para ser utilizadas en el análisis filogenético. Los números en los nodos representan el valor de soporte de Bootstrap (1000 réplicas).

Las secuencias de *Bartonella* analizadas en base a la región amplificada del gen del citrato sintetasa (*gltA*; n = 9) se ubicaron en dos clados (Fig. 3). El primer clado agrupó seis secuencias no identificadas anteriormente, detectadas en pulgas provenientes de R. N. Nonguén (II124a), Puerto Aysén (V23a, V23c), Canela Baja (III75b, III57a), R. N. Isla Mocha (IX271B), Illapel (IV7b) e Iquique (IV160a), así como dos secuencias estrechamente cercanas a *B. tribocorum*, detectadas de pulgas en Puerto Aysén (95% y 97% identidad). Cabe resaltar que la secuencia proveniente de Iquique estuvo estrechamente relacionada (99% identidad) a una cepa de *B. mastomydis* aislada de roedores en Senegal (KY555066.1). Por otro lado, el segundo clado solo reunió una cepa no identificada aislada de una pulga en Iquique y que tuvo como grupo hermano el de *B. rochalimae* y *Bartonella* sp. 1-1C (CP019489.1) (Fig. 3).

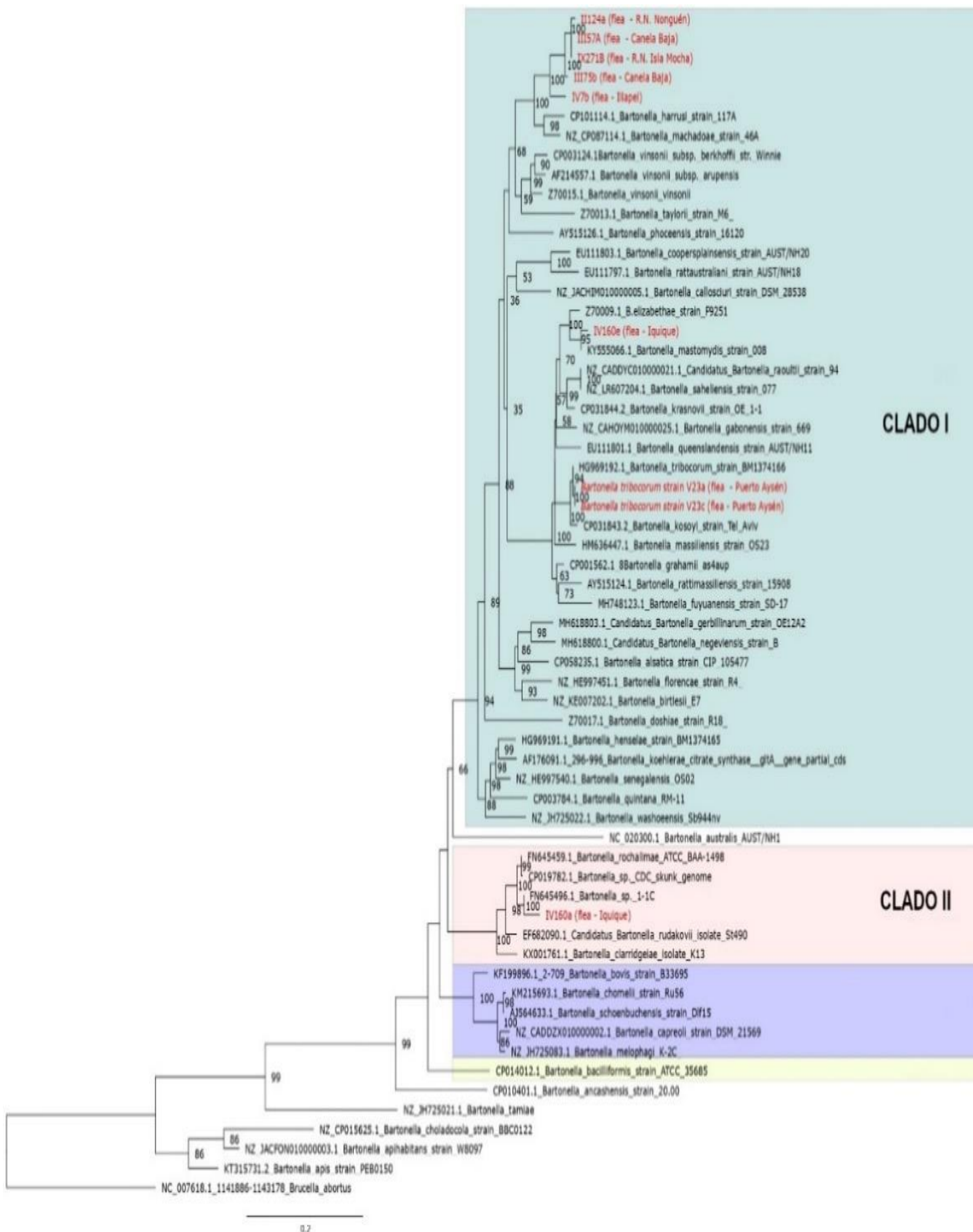
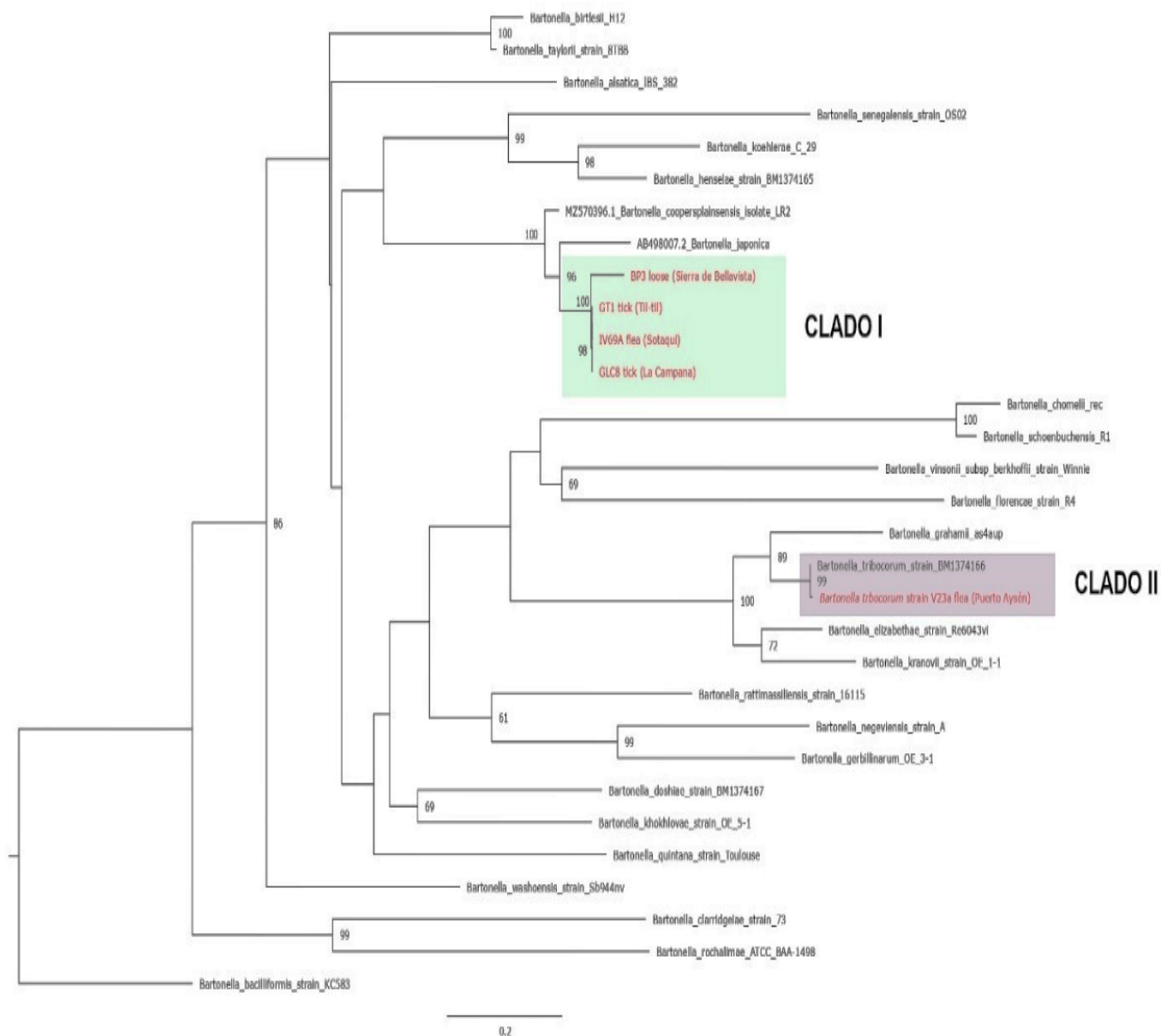


Figura 3. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de Bartonella basado en la región gltA (resaltadas en rojo). Dichas secuencias fueron obtenidas de ectoparásitos en Rattus rattus de diversas

localidades en Chile. De un total de 10 secuencias obtenidas, 9 tuvieron una calidad aceptable para ser utilizadas en el análisis filogenético. Los números en los nodos representan el valor de soporte de Bootstrap (1000 réplicas).

El análisis filogenético basado en las secuencias de la región *ITS* ( $n = 5$ ) reveló dos clados (Fig. 4). El primero consistió en un grupo monofilético compuesto de secuencias no identificadas de *Bartonella* aisladas de diversos ectoparásitos de *R. rattus* (pulgas, piojos, garrapatas) de diversas localidades (Sierra de Bellavista, Til-Til, Sotaqui y La Campana). Este grupo fue similar a una secuencia de *B. japonica* aislada de un roedor (*Apodemus argenteus*) en Japón (AB498007.2). El segundo grupo reunió una secuencia similar a *B. tribocorum* identificada de una pulga en Puerto Aysén, la cual estuvo estrechamente asociada a una cepa de la misma especie aislada de sangre humana en Francia (cepa BM1374166) (Fig. 4).



**Figure 4. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de *Bartonella* basado en la región ITS (resaltadas en rojo).** Dichas secuencias fueron obtenidas de ectoparásitos en *Rattus rattus* de diversas localidades en Chile. De un total de 23 secuencias obtenidas, tan solo 5 tuvieron una calidad aceptable para ser utilizadas en el análisis filogenético. Los números en los nodos representan el valor de soporte de Bootstrap (1000 réplicas).

Para el caso de *Rickettsia*, 31 de las secuencias analizadas de la región del gen de la proteína de membrana externa *ompB* fueron idénticas a la cepa California 2 de *R. felis* (CP000053.1), mientras que cinco de ellas mostraron cercanía a *R. felis* con menor identidad nucleótida (Fig. 5). La única secuencia analizada en base a la región *gltA* (pulga de Illapel) se asoció a una muestra de *Rickettsia* no cultivada proveniente de pulgas y garrapatas en la zona centro-occidental de Brasil (KY753118.1).



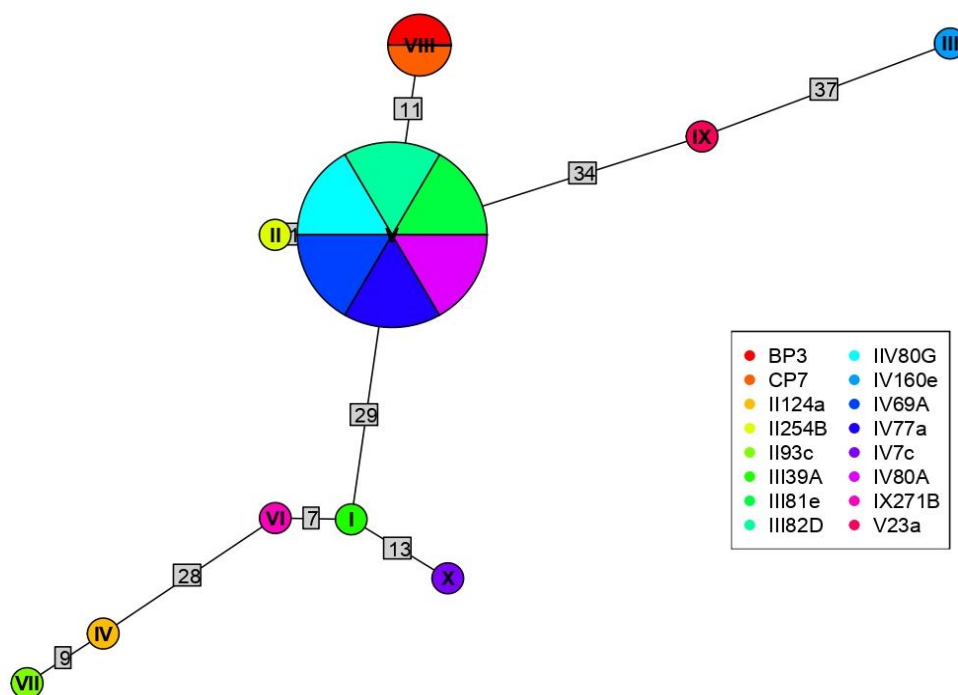
**Figure 5. Árbol filogenético obtenido por Máxima verosimilitud de secuencias de *Rickettsia* basado en la región *ompB* (dentro del recuadro rosado).** Dichas secuencias fueron obtenidas de ectoparásitos en *Rattus rattus*

de diversas localidades en Chile. De un total de 58 secuencias obtenidas, tan solo 32 tuvieron una calidad aceptable para ser utilizadas en el análisis filogenético. Los números en los nodos representan el valor de soporte de Bootstrap (1000 réplicas).

### **Análisis de diversidad genética de las bacterias analizadas**

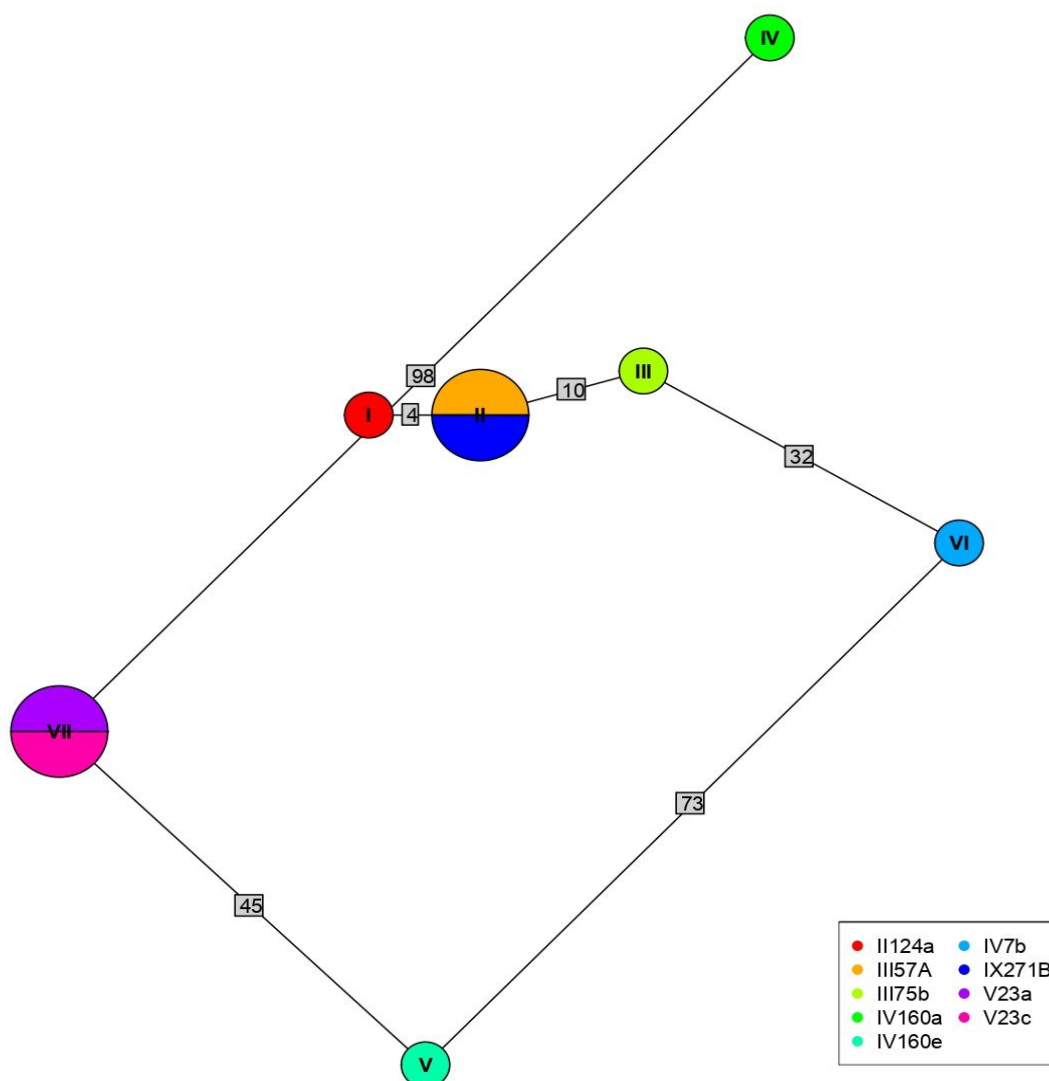
El análisis de haplotipos en *Bartonella* se basó en secuencias de las regiones *rpoB*, *gltA* e *ITS* de ectoparásitos provenientes de *R. rattus* en Chile, dando como resultado diez haplotipos para *rpoB*, siete para *gltA* y tres para *ITS*. Los valores de diversidad haplotípica fueron altos ( $Hd-rpoB = 0,87$ ,  $Hd-gltA = 0,94$ ,  $Hd-ITS = 0,70$ ), indicando una alta cantidad de haplotipos únicos y exclusivos con un tamaño muestral bajo en las poblaciones. Por otro lado, el análisis en *Rickettsia* basado en las regiones *ompB* provenientes de las muestras antes mencionadas, resultaron en dos haplotipos para *ompB*. La diversidad haplotípica en este caso fue extremadamente baja (0,06), lo que es concordante con la baja cantidad de haplotipos encontrados.

La red de haplotipos de *rpoB* para *Bartonella* mostró 70 sitios variables. El haplotipo de mayor prevalencia fue el V (6 de 16 secuencias), el cual se halló en todas las muestras de pulgas de Sotaqui y en una de Monte Patria, correspondientes a localidades silvestres y rurales, respectivamente. El segundo haplotipo más prevalente fue el VIII (2 de 16 secuencias), hallado solamente en piojos de La Campana y Sierra de Bellavista. El resto de los haplotipos estuvieron representados por secuencias únicas provenientes de pulgas de diversas localidades. Los haplotipos II y V fueron los más cercanos y formaron un solo clado en los análisis filogenéticos, los cuales a su vez constituyeron un clado hermano del haplotipo VIII (*B. coopersplainensis*). Los haplotipos restantes se encontraron más distantes entre sí y alejados del grupo conformado por los haplotipos II, V y VIII (Fig. 6).



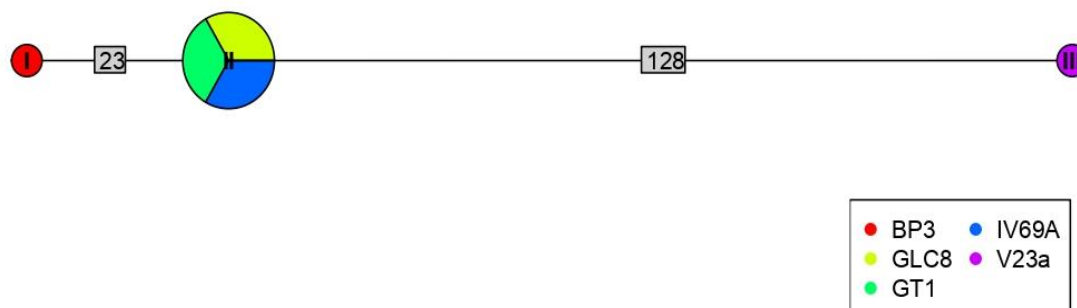
**Figura 6.** Red de haplotipos para *Bartonella* usando secuencias de la región *rpoB* extraídas de ectoparásitos de *Rattus rattus* en diferentes localidades de Chile. De un total de 35 secuencias obtenidas, tan solo 16 se usaron para la elaboración de la red. Las cifras en cada rama indican el número de cambios de nucleótidos entre los haplotipos. BP3, piojo de Sierra de Bellavista; CP7, piojo de La Campana; II124a, pulga de R. N. Nonguén; II125B, pulga de P. N. Fray Jorge; II93c, pulga de R. N. Nonguén; III39A, pulga de Illapel; III81e, pulga de Sotaqui; III82D, pulga de Sotaqui; IIV80G, pulga de Sotaqui; IV160e, pulga de Iquique; IV69A, pulga de Sotaqui; IV77a, pulga de Monte Patria; IV80A, pulga de Sotaqui; IX271B, pulga de R. N. Isla Mocha; V23a, pulga de Puerto Aysén.

La red de haplotipos de *gltA* para *Bartonella* develó 159 sitios variables. El haplotipo II y VII fueron los más representativos con dos de nueve secuencias por haplotipo provenientes de pulgas de Canela Baja y la R.N. Isla Mocha (haplotipo II) y de Puerto Aysén (haplotipo VII). El resto de los haplotipos estuvieron representados por secuencias únicas provenientes de pulgas de diversas localidades. Los haplotipos más cercanos fueron el I, II y III, los cuales formaron un grupo en los análisis filogenéticos y formaron, a su vez, un clado hermano del haplotipo VI. Los haplotipos distantes tuvieron una alta divergencia genética entre sí (Fig. 7). A diferencia de la red obtenida para *rpoB*, no se observó un haplotipo central del cual derivaran el resto de los haplotipos.



**Figure 7. Red de haplotipos para *Bartonella* usando secuencias de la región *gltA* extraídas de ectoparásitos de *Rattus rattus* en diferentes localidades de Chile.** De un total de 10 secuencias obtenidas, tan solo 9 se usaron para la elaboración de la red. Las cifras en cada rama indican el número de cambios de nucleótidos entre los haplotipos. II124a, pulga de R. N. Nonguén; III57A, pulga de Canela Baja; III75b, pulga de Canela Baja; IV160a, pulga de Iquique; IV160e, pulga de Iquique; IV7b, pulga de Illapel; IX271B, pulga de R. N. Isla Mocha; V23a, pulga de Puerto Aysén; V23c, pulga de Puerto Aysén.

La red de haplotipos de *ITS* para *Bartonella* develó 138 sitios variables. El haplotipo III fue el más representativo con 3 de 5 secuencias provenientes de dos garrapatas (una de Til Til y otra del P. N. La Campana) y una pulga (Sotaqui). El haplotipo I (una secuencia aislada de una pulga de Sierra de Bellavista) constituyó el clado hermano del haplotipo III, lo cual fue concordante con los análisis filogenéticos. El haplotipo III (pulga de Puerto Aysén) estuvo distante de los dos antes mencionados, con un total de 128 cambios de nucleótidos entre dicho grupo y el haplotipo en cuestión (Fig. 8).



**Figure 8. Red de haplotipos para *Bartonella* usando secuencias de la región ITS extraídas de ectoparásitos de *Rattus rattus* en diferentes localidades de Chile.** De un total de 29 secuencias obtenidas, tan solo 5 se usaron para la elaboración de la red. Las cifras en cada rama indican el número de cambios de nucleótidos entre los haplotipos. BP3, piojo de Sierra de Bellavista; GLC8, garrapata de La Campana; GT1, garrapata de Til-til; IV69a, pulga de Sotaqui; V23a, pulga de Puerto Aysén.

Para el caso de *Rickettsia*, la red de haplotipos derivada de la región *ompB* mostró solo dos grupos, siendo el haplotipo I el que reunió la mayor parte de las secuencias (30 de 31 secuencias) provenientes de ácaros, garrapatas y pulgas de diversas localidades.

#### 4) Evaluar la asociación entre el tipo de localidad, abundancia, diversidad y prevalencia de ectoparásitos con respecto a la diversidad y prevalencia de bacterias detectadas en poblaciones de *Rattus rattus* en Chile.

La presencia de ADN de *Bartonella* spp. no mostró asociación con ninguna de las variables evaluadas, incluyendo el tipo de localidad, abundancia, diversidad y prevalencia de los ectoparásitos de los distintos grupos (Tabla 10). Por otro lado, para *Rickettsia* spp., solo se observó asociación positiva entre la prevalencia de pulgas y la presencia de *Rickettsia* (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados del Modelo Lineal Generalizado con distribución binomial para cada género de bacteria. \* Indica significativo.

Factor	<i>Bartonella</i> spp.		<i>Rickettsia</i> spp.	
	R2	<i>p</i>	R2	<i>p</i>
Antropización	0,07	0,14	0,02	0,49
Abun. General	0,04	0,32	0,05	0,24

Abundancia pulgas	0,06	0,22	0,07	0,18
Abundancia piojo	0,03	0,42	0,03	0,42
Abundancia Ácaros	0,01	0,59	0,09	0,14
Abundancia garrapatas	0,03	0,36	0,04	0,30
Diversidad Ecto	0,03	0,41	0,02	0,53
Prevalencia Pulgas	0,0003	0,93	0,14	0,05*
Prevalencia Piojos	0,06	0,21	0,03	0,42
Prevalencia Ácaros	0,02	0,51	0,01	0,56
Prevalencia Garrapatas	0,05	0,27	0,06	0,21
Todos los factores	0,22	0,63	0,03	0,85

## 5. Discusión

### **Prevalencia, abundancia, diversidad de ectoparásitos en *Rattus rattus* en localidades con distinto grado de intervención antrópica en Chile.**

En el presente trabajo, se planteó la hipótesis de que *R. rattus* procedentes de las zonas rurales albergarían mayores cargas parasitarias y diversidad de ectoparásitos, debido a que estas áreas representarían zonas de contacto entre roedores sintrópicos y silvestres, donde la fauna parasitaria de los roedores se transmitiría entre las distintas especies debido a la mayor probabilidad de encuentro. Sin embargo, se rechaza esta hipótesis debido a que no se observaron diferencias significativas entre las prevalencias, abundancias medias, intensidades medias y diversidades encontradas en el conjunto de ectoparásitos en las distintas zonas. Estos resultados sugieren una distribución relativamente homogénea del parasitismo de roedores en estos entornos. Sin embargo, al analizar cada grupo de parásitos por separado se encontraron diferencias en algunos de los descriptores, lo que demostró ser dependiente de la especie de ectoparásito estudiada.

Respecto con los grupos de ectoparásitos analizados, los piojos fueron los más abundantes, seguidos por los ácaros, las pulgas y las garrapatas. Las garrapatas y los ácaros no presentaron diferencias significativas entre las tres zonas de antropización, lo que sugiere una distribución

más homogénea en los diferentes hábitats estudiados y los hábitos similares que podrían presentar estos dos grupos de parásitos (Paramasvaran et al., 2009; Modi & Vankara, 2021). Estas comparaciones se realizaron considerando variables como prevalencia, abundancia, intensidad y diversidad. Sin embargo, los piojos y las pulgas mostraron diferencias en al menos uno de los descriptores evaluados, lo que en el caso de las pulgas fue dependiente de la especie analizada, donde algunas fueron más prevalentes en áreas rurales (Ej. *L. segnis*) mientras que otras fueron más prevalentes y abundantes en las ciudades (Ej. *N. fasciatus*).

La densidad de hospedadores y la estructura del paisaje pueden afectar a la distribución de los ectoparásitos. Entre los factores locales que influyen en la abundancia de especies de ectoparásitos figuran la densidad de hospedadores, la interacción social y las luchas territoriales, que pueden facilitar la transmisión de parásitos entre roedores (Wolff, 1985; Brunner y Ostfeld, 2008; Young et al., 2015; Krasnov et al., 2022; Klain et al., 2023). Las diferencias en el entorno local entre distintas localidades ejercen una notable influencia en la presencia y abundancia de ectoparásitos en cada sitio, sin embargo, aunque los sitios de captura se diferenciaron respecto al grado de antropización, el hecho de *R. rattus* estuvo asociado a las viviendas y construcciones humanas podría homogeneizar los tipos de hábitat, siendo el más diferente en este estudio, las áreas silvestres.

Se ha observado que ciertos ectoparásitos son más sensibles a las variaciones ambientales; por ejemplo, los piojos podrían ser menos susceptibles debido a son parásitos permanentes que viven en el pelo a una temperatura casi constante a lo largo de su vida, muestran una menor sensibilidad a los cambios ambientales en comparación con otros ectoparásitos, como las garrapatas y las pulgas (Krasnov et al., 2001). Esto podría explicar la mayor abundancia de piojos, los que necesitan de contacto directo para transmitirse, y una mayor abundancia de roedores podría facilitar su transmisión (Palma et al., 2003). Por otra parte, las garrapatas podrían verse más afectadas por la falta de refugio para permanecer en los periodos en que se encuentran mudando, ya que, a diferencia de los piojos, se bajan del hospedero y están más expuestas a las condiciones ambientales externas (Krasnov et al., 2001; Palma et al., 2003).

Aunque el número de roedores parasitados (Ciudad=49; Rurales=17; Silvestres=30) y pulgas recolectadas (Ciudad=95; Rurales=61; Silvestres=69) fue mayor en las ciudades que en zonas rurales y zonas silvestres, la prevalencia de pulgas fue mayor en zonas rurales. Estos resultados concuerdan con el trabajo de Moreno et al. (2019), quienes identificaron una mayor prevalencia de pulgas en *Rattus* en zonas rurales. Estos resultados enfatizan la importancia de considerar

la ecología y el comportamiento de los hospedadores en la dinámica de las poblaciones de ectoparásitos, aspecto que también se correlaciona con los hallazgos de este estudio.

A pesar de las influencias antropogénicas y a que las ratas ocuparon ambientes silvestres, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en la diversidad de especies de ectoparásitos entre las diferentes zonas evaluadas. Esto podría indicar una dinámica particular en la relación parásito-hospedador o la adaptación de ciertas especies a estas transformaciones en el medio ambiente. Una posible explicación a esta situación es la existencia de una población permanente de ratas sin fluctuaciones significativas a lo largo del año. Las ratas tienen una esperanza de vida de 1 a 3 años, las generaciones se superponen y se reproducen constantemente durante todo el año, lo que significa que hay una población permanente de ratas que pueden ser explotadas por los parásitos (Torres Mejía, 2006). En este contexto, los ectoparásitos pueden permanecer en la población de ratas y adaptarse a los cambios en el medio ambiente debido a la presencia de una fuente de alimentación constante y la falta de fluctuaciones en la población de hospederos. Esto podría explicar la falta de diferencias significativas en la diversidad de especies de ectoparásitos entre las diferentes zonas de antropización (Torres Mejía, 2006).

Respecto a las especies de ectoparásitos aisladas en *R. rattus*, estos ya habían sido reportados previamente en esta especie. De las dos especies de piojos aisladas, *P. spinulosa* fue la más abundante, la cual ha sido identificada previamente como parásito tanto de *R. rattus* (Baak-Baak *et al.*, 2016; Eslami; Yousefi; Dowling, 2018) como de *R. norvegicus* (Mooser *et al.*, 1931). Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que han identificado a *P. spinulosa* parasitando a *R. rattus* en otras áreas de Chile (Thompson, 1938; González-Acuña *et al.* 2005). Estudios anteriores han sugerido que estos piojos podrían desempeñar un papel en la mantención de *R. typhi* dentro de las comunidades de roedores (Gillespie *et al.*, 2009). Aunque es poco probable que los piojos de roedores parasiten a los humanos, su presencia en estos roedores podría favorecer la transmisión de bacterias a otros roedores, y a su vez, estas bacterias podrían ser transmitidas a los humanos por otros artrópodos hematófagos, como pulgas, ácaros o garrapatas, que pican a los humanos (Durden & Page, 1991; Chakma *et al.*, 2015).

En cuanto a los ácaros, *Ornithonyssus* sp. fue la más abundante. No se pudo identificar a nivel de especie a los ácaros debido a la dificultad de distinguir las especies morfológicamente, específicamente, el complejo de especies *Ornithonyssus* se presenta como extremadamente difícil de identificar mediante métodos morfológicos tradicionales, por lo que requiere complementarlos con análisis moleculares (Silva de La Fuente, 2019). Este género de ácaros es

conocido por ser un potencial vector biológico de enfermedades en animales silvestres, domésticos y humanos (Radovsky, 1994). En Chile, se ha asociado a casos de dermatitis (Barriga & Donckaster, 1965; Jofré et al., 2009) y se ha detectado la presencia de *Bartonella* spp. en ejemplares de *Ornithonyssus* sp. colectados de roedores silvestres (Silva de la Fuente, 2019). Estos hallazgos destacan la importancia de monitorear la presencia y distribución de estos ácaros debido a su potencial impacto en la salud pública y la fauna silvestre.

En relación con las garrapatas, se encontraron dos especies, siendo *I. sigelos* la más abundante. Estos resultados respaldan investigaciones anteriores que han documentado la presencia de estas especies de garrapatas en roedores introducidos, lo que sugiere que *R. rattus* puede estar actuando como un hospedero para estas garrapatas y potencialmente contribuyendo a su dispersión (Osorio, 2001). Cabe destacar que *I. sigelos* también ha sido registrada en roedores silvestres, lo que indica posibles contactos o el uso de espacios comunes con especies nativas. Además, el hecho de encontrar estas garrapatas en entornos urbanos refuerza la idea de que las ratas están siendo exitosamente utilizadas como hospedadores de *I. sigelos*, con posibles implicaciones significativas en términos de dispersión y salud pública (Osorio, 2001; González-Acuña et al., 2004).

La especie de pulga *L. segnis* ha sido descrita comúnmente en ratas, siendo un ectoparásito frecuente en este hospedador (Moreno et al., 2019). Esta especie, la más abundante entre las 17 identificadas, ha sido detectada albergando hasta siete especies de *Rickettsia*. Algunas de las cuales son patógenas para los humanos. Aunque las pulgas son consideradas parásitos ocasionales, dado que principalmente se suben al hospedador solo para alimentarse, su papel en la transmisión de enfermedades, como en el caso de las *Rickettsias*, es un aspecto importante para tener en cuenta (Beaucournu et al., 2014).

El presente estudio revela un hallazgo relevante sobre la relación entre la especie *R. rattus* y las pulgas *Ctenoparia inopinata*, *Siphinctopsylla ares* y *Tetrapsyllus rhombus*, que previamente se habían registrado en roedores silvestres como *A. olivacea*, *Abrothrix longipilis*, *Oligoryzomys longicaudatus* y *Phyllotis darwini* (Alarcón, 2003). Estos antecedentes sugieren que *R. rattus* ha adquirido nuevos parásitos desde la fauna nativa, lo que ha facilitado la transferencia de pulgas entre diferentes especies de roedores viviendo en simpatria. Es importante tener en cuenta que las pulgas, a diferencia de los piojos, no dependen completamente de sus hospedadores, ya que principalmente se suben a ellos para alimentarse (Krasnov, 2008). Por esta razón, son consideradas parásitos ocasionales (Durdem & Adams, 2005).

### **Prevalencia de las bacterias *Bartonella*, *Rickettsia* y *Coxiella***

Considerando todos los especímenes de ectoparásitos evaluados (pulgas, piojos, ácaros y garrapatas), la prevalencia global de ADN de *Bartonella* encontrada en este estudio fue 39,4% y para *Rickettsia* fue de 36,92%. Ninguna garrapata analizada fue positiva a ADN de *Coxiella*. La ausencia de ADN de esta última bacteria no es tan sorprendente ya que otros estudios han obtenido los mismos resultados (Selmi et al., 2021; de Cock et al., 2023). Es importante destacar que, en Ixodes, en lugar de encontrar Coxiella-like endosimbiontes, se han descubierto Francisella-like endosimbiontes (Brenner et al., 2021). Este hallazgo podría contribuir a explicar también los resultados negativos observados en el estudio. Incluso en aquellos en los que sí aparecía, no superaba el 5% (Reusken et al., 2011; Kamani et al., 2018; Rozental et al., 2017). Otra explicación es la especie analizada, en el presente estudio se analizaron solo *Ixodes*, y entre las principales especies transmisoras de esta bacteria se menciona a *Amblyomma* spp., (Angelakis & Raoult, 2010; Diarra et al., 2020). La ausencia de ectoparásitos positivos a *Coxiella* en los roedores examinados podría revelar una dinámica compleja entre los roedores y las garrapatas que transportan la bacteria (Peñañiel, 2010; Quintero et al., 2013).

De los cuatro tipos de ectoparásitos evaluados, las pulgas fueron las que presentaron mayor prevalencia de ADN de *Bartonella* spp. (53,4%) y *Rickettsia* spp. (50,3%), seguidas de los piojos (33,3% y 19,2%, respectivamente) y las garrapatas y ácaros (aproximadamente el 20% para cada uno). La prevalencia global de infección por *Bartonella* encontrada en este estudio (39,4%) fue similar y en otras ocasiones mayor que en otros estudios: 32,5% (Klangthong et al., 2015/ PCR en tiempo real) y 34,9% (Panthawong et al., 2020/ PCR en tiempo real) en Tailandia; 15% en Tanzania (Theonest et al., 2019/ PCR anidada); y también en las realizadas en Chile: 21,2% (Moreno-Salas et al., 2019/PCR Convencional), 27,7% (Sepúlveda-García et al., 2023/ PCR en tiempo real y PCR Convencional) y 36,3% (Müller et al., 2020/ PCR en tiempo real y PCR Convencional). Comparado específicamente con resultados publicados en Chile, los valores son similares, exceptuando son más altos que el trabajo de Moreno et al., (2019), donde utilizó PCR convencional, mientras que en el presente estudio se utilizó PCR en tiempo real y después PCR convencional. Entre ambas técnicas existe diferencia en la sensibilidad y especificidad. La PCR en tiempo real es más sensible y permite una medición precisa del ADN, mientras que la PCR convencional es menos sensible y no proporciona esta capacidad de medición (Müller et al., 2017; Palacios et al., 2023). Respecto a los otros dos estudios citados, el tamaño de muestra analizada fue menor (Ej. 33 ratas y 347 ectoparásitos en

Müller et al., 2020), lo que difiere significativamente de este estudio, que utilizó 348 ratas y 1328 ectoparásitos de distintas localidades.

En relación con los piojos, la prevalencia de ADN de *Bartonella* detectado en este estudio fue similar a la de otras investigaciones realizadas en México y Egipto, cercano al 30% (Sánchez-Montes et al., 2016; Reeves et al., 2006), sin embargo valores más bajos de prevalencia (9,2%) se han reportado en Etiopía (Cutler et al., 2012). Por el contrario, en el estudio de Klangthong et al. (2015) La prevalencia de *Bartonella* en garrapatas fueron sustancialmente más bajas que las encontradas en este estudio (3,5% vs. 26,6%), a pesar de que el número de pulgas analizadas en ese estudio fue casi el doble de las investigadas en esta búsqueda (170 vs. 90). La misma diferencia en prevalencia ocurrió con relación a las pulgas (25,8% vs. 53,4%), sin embargo, en este caso, el número de pulgas analizadas por Klangthong et al. (2015) fue de 62 individuos, mientras que en este estudio el número fue más de tres veces mayor (193). Además, el uso de la PCR convencional puede haber subestimado la prevalencia real.

En este sentido, es interesante señalar que la prevalencia de ambas bacterias puede variar en función del entorno en el que vive el ectoparásito: así como este estudio mostró una mayor prevalencia de *Bartonella* en ácaros y pulgas de zonas rurales (33,3% y 55,9%, respectivamente), estudios realizados en Eslovaquia (80%) (Špitalská et al., 2022) y Chile (34,8%) (Moreno-Salas et al., 2019) también señalaron esta tendencia.

En el caso de *Rickettsia*, aunque algunos estudios difieren en cuanto a su presencia en ectoparásitos, mostrando prevalencias del 25,7% en Lituania (Radzijeuskaja et al., 2018) y del 9,5% en México (López-Pérez et al., 2021), otros han mostrado resultados similares a este estudio (36,92%): 10 a 32% en EE. UU. (Abramowicz et al., 2011), 28,6% en Alemania (Obiegala et al., 2016) y 35,1% en Chile (Moreno-Salas et al., 2020b). Todos los estudios mencionados, excepto Moreno et al. (2019) utilizaron el método de PCR en tiempo real para identificar *Rickettsia* en roedores (Abramowicz et al., 2011; Radzijeuskaja et al., 2018) y también en otros micromamíferos (Obiegala et al., 2016; Moreno-Salas et al., 2020b; López-Pérez et al., 2021) y sus ectoparásitos recogidos en diferentes zonas de antropización. Dos de ellos utilizaron un número de ectoparásitos similar al de este estudio -1315 (Moreno-Salas et al., 2020b) y 1261 (Radzijeuskaja et al., 2018), aunque este último, realizado en Lituania, mostró una menor prevalencia de *Rickettsia*. Esto puede explicarse por el hecho de que el clima en Lituania es más cálido, con inviernos relativamente suaves y veranos templados (Radzijeuskaja et al., 2018), lo que no favorece la aglomeración de roedores y la transmisión

de ectoparásitos/reproducción de los ectoparásitos y *Rickettsia*. Otro estudio en la provincia de Buenos Aires analizó la prevalencia de *Rickettsia* spp. en diferentes ectoparásitos de roedores silvestres y sinantrópicos, pero no proporcionó datos específicos sobre la prevalencia de *Rickettsia* (Melis, 2023).

Es importante reconocer la relevancia de la prevalencia de ADN de *Rickettsia* detectada en pulgas debido a la posibilidad de transmisión del tifus, ya que, en muchas partes del mundo, la infección por tifus murino está estrechamente asociada a la introducción de *R. rattus* y *R. norvegicus* y sus pulgas en entornos con presencia humana (Gillespie et al., 2009). En Chipre, la prevalencia de pulgas fue considerablemente menor que la reportada en este estudio (5,6% vs. 19,3%), a pesar de que el número de pulgas analizadas fue mayor en el otro estudio (250 vs. 193) (Psaroulaki et al., 2006). Por otro lado, en el Congo, la prevalencia fue mayor que la encontrada en este estudio (72% vs. 50,3%), a pesar de que el número de pulgas analizadas (188 vs. 193) fue similar y se utilizó PCR convencional, la cual es más limitada que la qPCR (Laudisoit et al., 2014).

Los estudios sobre la presencia de esta bacteria en piojos de roedores son escasos. A pesar de ello, ya se han notificado casos de rickettsiosis en hospedadores humanos con una vía de transmisión a partir de roedores, como ardillas en Estados Unidos (Duma et al., 1981; Prusinski et al., 2014) y probablemente a partir de ratas en México (Acuña-Soto et al., 2000; Dzul-Rosado et al., 2013). La acumulación de basura podría provocar aumento en la densidad de roedores lo que a su vez puede producir un aumento en la prevalencia y abundancia de piojos (D'Cruz et al., 2022), luego la muerte de estos roedores puede provocar que los piojos pueden alimentarse de un ser humano lo que llevaría a la exacerbación del tifus epidémico (Portillo et al., 2015).

Respecto a los ácaros, en el estudio de Reeves et al. (2007), 416 individuos recolectados fueron agrupados en 79 pools, de los cuales 8 resultaron positivos para *Rickettsia*, mostrando una baja prevalencia que no coincide con el 22,2% encontrado en esta investigación. La misma discrepancia (13%) se encontró en el estudio de Kuo et al. (2020), quienes reportaron 7 pools positivos para *Rickettsia* entre los 72 analizados. No se observó lo mismo con las garrapatas, ya que otros estudios corroboraron estas características e informaron una prevalencia similar de *Rickettsia* en garrapatas (alrededor del 20%) en Brasil (de Sousa et al., 2018a) y Madagascar (Ehlers et al., 2020).

En el caso de *Rickettsia*, este estudio encontró una mayor prevalencia en los ácaros de zonas rurales (66,7%). Sin embargo, estos datos difieren de otros estudios realizados en Lituania (Radzijeuskaja et al., 2018), Taiwán (Kuo; Lee; Wang, 2020) y Eslovaquia (Špitalská et al., 2022) las cuales mostraron prevalencias de 9,3%, 9,7% y 57,8%, respectivamente. Al igual que *Bartonella*, *Rickettsia* también mostró una menor prevalencia en piojos de zonas rurales, similar a los hallazgos de Quintero et al. (2013) en Colombia.

En este estudio, la prevalencia de *Bartonella* fue mayor en zonas silvestres (60%), aunque se observó que las zonas urbanas (54%) y rurales (44%) también mantenían una alta prevalencia. Un estudio anterior en Chile asoció la presencia de *Bartonella* a lugares con mayor densidad poblacional de humanos, como zonas urbanas (15%) y rurales (35%) (Moreno-Salas et al., 2019).

Se ha informado de una prevalencia considerable de *Bartonella* en diferentes biomas de Brasil (Gonçalves et al., 2016), donde las mayores ocurrencias se dieron en zonas con más vegetación (Mata Atlántica: 35,9%; Pantanal: 34,4%) y las menores en la Caatinga (6,7%), una zona más seca y con menos vegetación. Del mismo modo, otros estudios en áreas silvestres han mostrado una alta prevalencia de *Bartonella*, que alcanzó el 43% (Favacho et al., 2015; De Sousa et al., 2018b). En Chile, un estudio sobre la prevalencia de *B. henselae* en donantes de sangre arroja una prevalencia del 13,6%, este estudio se llevó a cabo con hombres y mujeres que asistieron al Banco de Sangre de un hospital en la Región Metropolitana (Núñez et al., 2017).

En el caso de *Rickettsia*, la prevalencia de esta parece depender significativamente de la ubicación geográfica, mostrando un aumento en ambientes urbanos (Kosoy y Bai, 2019). Aunque en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en la prevalencia de *Rickettsia*, si se observa una tendencia a una mayor prevalencia en zonas urbanas (59%) – donde predominaban los piojos y las pulgas, seguido de las zonas silvestres (56%) -donde predominaban los piojos- y las zonas rurales (46%) -donde predominaban las pulgas-. Estas leves diferencias observadas podrían ser explicadas por la composición de los ensambles de ectoparásitos analizados. Sin embargo, Moreno-Salas et al. (2020) en un estudio que evaluó la presencia de ADN de *Rickettsia* en pulgas de diferentes micromamíferos en Chile, reveló que la prevalencia de *Rickettsia* estaba más fuertemente vinculada a zonas silvestres (16%) y rurales (11%) que a zonas urbanas (5%). Es relevante señalar que el estudio de Moreno-Salas et al. (2020) se enfocó exclusivamente en pulgas, y que incluyó no solo a ratas, sino que a otros

micromamíferos silvestres, lo que sugiere que la especie o grupo de ectoparásitos analizados podría ser un factor clave en las diferencias observadas.

En conjunto, estos datos pueden estar relacionados con el hecho de que en las zonas más urbanizadas estos animales tienden a buscar refugio en lugares relativamente pequeños, lo que provoca un aumento de la densidad de población, especialmente en las zonas boscosas, que suelen estar restringidas en las localidades urbanas. Esto facilita la transmisión de bacterias y otros patógenos entre especies (Blasdell et al., 2019b).

Esto se confirmó en el estudio de Cock et al. (2023), que mostró una correlación positiva entre la presencia de bacterias, como *Bartonella*, en ratas de entornos urbanos con vegetación. Esto se atribuyó al hecho de que los ectoparásitos, como garrapatas y pulgas, sobreviven mejor en estos entornos, ya que se produce un aumento de la densidad de población de ratas en estos lugares, lo que se configura como un aumento de la oferta de alimento para los parásitos. Los hallazgos de este estudio destacan la importancia de considerar las dificultades inherentes al uso de los ectoparásitos como centinelas de las bacterias estudiadas. Una de las principales dificultades encontradas fue la incertidumbre sobre el origen de las bacterias identificadas en los ectoparásitos, ya que podrían provenir tanto de los ectoparásitos como de la sangre del roedor (Lucero Velasco, 2017). Esta ambigüedad plantea desafíos significativos en la interpretación de los resultados y sugiere la necesidad de realizar investigaciones adicionales para clarificar la relación entre las bacterias y sus vectores potenciales.

### **Diversidad haplotípica y la cercanía filogenética de bacterias detectadas con grupos de bacterias potencialmente patógenas.**

Para determinar la diversidad y la cercanía filogenética de bacterias detectadas con grupos de bacterias potencialmente patógenas, el género *Bartonella* ha sido analizado desde una perspectiva filogenética utilizando varios marcadores moleculares, entre los que destacan *rpoB*, *gltA*, *ftsZ*, *nuoG*, *groEL* e *ITS* (Gonçalves et al. 2016, Kosoy y Bai 2019, Abreu-Yanes et al. 2020, Müller et al. 2020). Scola et al. (2003) señaló la amplia utilización de la región *gltA* en la clasificación taxonómica de *Bartonella* y en la distinción entre especies y subespecies en este grupo. Los autores subrayaron además el valor de emplear *rpoB* para mejorar la eficacia en la identificación, especialmente al investigar especies nuevas. En el presente trabajo, el uso de tres regiones (*rpoB*, *gltA* e *ITS*) permitió la identificación de al menos seis genotipos en

ectoparásitos de *R. rattus* en Chile, entre los que destacan *B. tribocorum* y *B. cooperplainsensis*. Esto es similar a lo reportado por Müller et al. (2020), quienes registraron cinco genotipos de *Bartonella* en roedores y pulgas de Chile, incluyendo las especies *B. tribocorum* y *B. rochalimae*.

Cabe resaltar que el análisis filogenético generado con la región ITS no generó un árbol tan robusto a juzgar por los bajos valores de *bootstrap* (<88%) en algunos nodos internos. Es por esto por lo que la determinación de genotipos y especies se basó mayormente en los marcadores *rpoB* y *gltA*.

Los resultados de los análisis filogenéticos mostraron similitud con bacterias con importancia zoonótica, una de ellas fue *Bartonella tribocorum*, especie con potencial zoonótico asociada a enfermedades en humanos, que ya ha sido reportada en pulgas de la misma localidad en Chile (Kosoy et al., 2010, Moreno-Salas et al., 2019). Por otro lado, *B. cooperplainsensis* suele infectar ratas del género *Rattus* a nivel mundial, aunque su impacto en la salud pública no ha sido determinado (Nesaraj et al. 2018, Kosoy y Bai 2019). En el presente estudio se detectó en piojos, donde secuencias fueron 100% idénticas a una cepa de *B. cooperplainsensis* aislada de roedores en Tailandia (MF105900.1). Recientemente, Sepúlveda-García et al. (2023) reportó la mencionada especie en *Rattus* spp. en diferentes localidades del centro y sur de Chile, usando los mismos marcadores utilizados en el presente estudio.

Cepas no identificadas anteriormente de *Bartonella* también fueron detectadas en los análisis filogenéticos. El marcador *rpoB* permitió detectar en pulgas de la R. N. Nonguén secuencias relacionadas con *B. doshiae*, especie con un alto potencial patogénico para humanos (Vayssier-Taussat et al., 2016). En ese mismo clado, secuencias provenientes de pulgas de diversas localidades en Chile tuvieron 99% de similitud con una cepa no cultivada (Huadu-52, ON394035.1) de *Bartonella* proveniente de roedores en áreas urbanas de Guangzhou, al sur de China (Yao et al. 2022). Asimismo, dichas secuencias estuvieron asociadas a *B. japonica* y *B. rattaustraliani* aisladas de *Apodemus argenteus* (ratón de campo japonés) y ratas australianas del género *Rattus*, respectivamente (Inoue et al., 2010, Kosoy & Bai, 2019). En los clados III y IV, las secuencias reportadas en pulgas estuvieron muy cercanas a cepas patógenas de *B. alsatica* (hallada en conejos silvestres) y *B. rochalimae* (reportada en una amplia variedad de mamíferos) respectivamente (Kosoy & Bai, 2019, Puges et al., 2019).

El marcador *gltA* también permitió develar secuencias en pulgas de diversas localidades con similitudes de entre 98% y 99% a una cepa de *Bartonella* aislada de *Apodemus sylvaticus* (ratón de campo) en Reino Unido (Birtles & Raoult, 1996). Dichas secuencias estuvieron altamente asociadas al clado *B. harrusi-B. machadoae*, dos especies recientemente descritas en roedores y marsupiales de vida libre en Brasil (do Amaral et al. 2022 a, b). Otras especies de importancia asociadas a las muestras trabajadas en la presente investigación fueron *B. mastomydis*, originalmente descrita de *Mastomys erythroleucus* en Senegal, y *Bartonella* sp. 1-1C, aislada de *R. norvegicus* en Tailandia, ambas asociadas a muestra de pulgas en Iquique (Lim et al., 2008, Dahmani et al., 2018).

*Rickettsia felis* es una bacteria Gram negativa intracelular obligada y agente causante de la fiebre manchada transmitida por pulgas. En el presente estudio, ADN de dicha especie fue identificada en ácaros, garrapatas y pulgas de *R. rattus* en diversas localidades chilenas. *Rickettsia felis* solo había sido identificada en pulgas comúnmente asociadas al humano y a animales domésticos como *P. irritans* (11%) y *C. felis felis* (92%) provenientes de zorros silvestres (*Lycalopex culpaeus* y *Lycalopex griseus*) en la zona mediterránea de Chile (Millán et al., 2023). Los vectores que transmiten esta bacteria suelen ser pulgas, garrapatas y ácaros, mientras que humanos, gatos y pequeños roedores se han reportado como hospederos, proporcionando un entorno propicio para el crecimiento y reproducción de la bacteria (Tsokana et al., 2022). La presencia de *R. felis* en ectoparásitos de *R. rattus* representa riesgo potencial para la salud pública de los seres humanos (Parola et al., 2001; Bitam et al., 2010; Bonilla et al., 2014).

La presencia de los mismos haplotipos en grupos de parásitos distintos puede ser el resultado de una combinación de factores, que incluyen la transmisión cruzada, las interacciones entre vectores, la transmisión vertical y la contaminación ambiental. Estos mecanismos pueden contribuir a la dispersión de microorganismos patógenos entre diferentes especies de ectoparásitos, lo que tiene implicaciones importantes (González, Rengifo & Arosemena, 2023; Minaya, Mendoza & Iannacone, 2021).

### **Diversidad genética de *Bartonella* y *Rickettsia***

Varios eventos genéticos, incluidas la mutación, la demografía y la recombinación, se consideran factores que regulan la diversidad de haplotipos (Gonçalves et al., 2016). La

diversidad genética en *Bartonella* se ha estudiado ampliamente con el marcador *gltA*; no obstante, eventos de recombinación pueden interferir en una correcta resolución al momento de identificar genotipos. Es por esto por lo que se recomienda utilizar, por lo menos, dos marcadores diferentes para inferir sobre la diversidad genética (Abreu-Yanes et al. 2020). En el presente trabajo, se utilizaron tres marcadores (*rpoB*, *gltA* e ITS) para la estimación de la diversidad genética.

La cantidad de haplotipos y la diversidad haplotípica halladas para *Bartonella* fue superior a lo reportado por Müller et al. (2020) en roedores y pulgas de Chile utilizando los mismos marcadores moleculares. Estas diferencias se pueden deber a la región geográfica de origen de las muestras analizadas, ya que en el trabajo de Müller et al. (2020) analizó muestras provenientes de la provincia de Valdivia e isla Guafo, ambas pertenecientes a la zona hidrográfica superhúmeda, mientras que el presente estudio analizó zonas entre las latitudes 30° a 36°, correspondientes a tres zonas hidrográficas distintas: árida, semiárida y subhúmeda. Por otro lado, Moreno-Salas et al. (2019) utilizó el marcador *gltA* en pulgas de *R. rattus* de Chile, reportando valores cercanos de haplotipos y diversidad haplotípica a los hallados en el presente trabajo. Cabe resaltar que los autores muestrearon pulgas en un rango amplio geográfico en Chile, abarcando casi todas las zonas hidrográficas. A nivel mundial, los valores de diversidad haplotípica para *Bartonella* en roedores en Brasil (0,96), Asia (0,94) y Norteamérica y Europa (0,89) (Gonçalves et al. 2016) son similares a lo hallado en los ectoparásitos analizados durante esta investigación.

La alta diversidad de haplotipos observada en los tres genes sugiere bajas similitudes intraespecíficas entre las secuencias de *Bartonella* del presente estudio y las especies descritas en todo el mundo. Estudios en África, Europa, Norte y Sudamérica han demostrado que la diversidad genética de *Bartonella* en ratas urbanas es generalmente baja comparada a lo reportado por roedores en áreas silvestres o rurales (Kosoy y Bai 2019). La baja diversidad genética de *Bartonella* en ratas urbanas, en comparación con roedores en áreas silvestres o rurales, sugiere que el entorno urbano puede influir en la diversidad genética de estas bacterias. La alta prevalencia de *Bartonella* asociada a las ratas de alcantarilla y la baja diversidad genética de *Bartonella* en ratas urbanas respaldan esta observación (Monge, 2019; Lareschi et al., 2022). Además, se ha identificado a la rata de alcantarilla como un reservorio "clave" de *Bartonella*, lo que indica su importancia en la transmisión de esta bacteria. Estos hallazgos sugieren que la

diversidad genética de las bacterias puede variar significativamente según el entorno y las especies hospedadoras involucradas (Monge, 2019; Lareschi et al., 2022).

En el presente estudio, los haplotipos de *Bartonella* más representativos fueron: los haplotipos ITS III - de dos garrapatas (una de Til Til - Urbana - y la otra del Parque Nacional La Campana - Zona silvestre) y una pulga (Sotaqui - Zona rural); para *rpoB* fueron los haplotipos V (de pulgas de Sotaqui y Monte Patria - Urbana) y VIII (de piojos de La Campana y Sierra Bellavista - área rural); y para *gltA* fueron los haplotipos II (de pulgas de Canela Baja - Zona rural - y R. N. Isla Mocha - Zona silvestre) y VII (de Puerto Aysén - Zona rural).

Para *Rickettsia*, el haplotipo I reúne la mayoría de las secuencias provenientes de ácaros, garrapatas y pulgas de diferentes localidades. La alta diversidad genética reportada se puede atribuir también a la inclusión de áreas no urbanas durante el muestreo de ectoparásitos en *R. rattus*. Asimismo, no se hallaron haplotipos exclusivos de algún ectoparásito, con excepción del haplotipo VIII del gen *rpoB* que solamente se halló en piojos.

La diversidad genética de *R. felis* fue baja (0,06), con tan solo un haplotipo encontrado en base al gen *ompB*. Esto es similar a lo reportado por Millán et al. (2023) en pulgas y zorros salvajes (*L. culpaeus* y *L. griseus*) de Chile utilizando los genes *gltA*, *ompA* y *ompB*. Esta ausencia de polimorfismo contrasta con lo indicado por Brown y Macaluso (2016), quienes enfatizaron la alta heterogeneidad de los genomas provenientes de diferentes cepas de *R. felis*, las cuales infectaban a diferentes vectores. Los autores sugirieron que la variabilidad genética observada podría deberse al aislamiento espacial y la posible especialización hacia el hospedador. Además, la llegada frecuente de ratas y, por tanto, de ectoparásitos y bacterias también podría ser un factor contribuyente.

### **Asociación entre la diversidad y prevalencia de bacterias con los descriptores parasitológicos**

No se observó una asociación significativa entre los distintos descriptores parasitológicos y la presencia de ADN de ninguna de las dos bacterias analizadas, excepto para *Rickettsia* que mostró asociación positiva significativa con la prevalencia de pulgas. Para el caso de *Bartonella*, Meheretu et al. (2013) demostraron que la probabilidad de infección no variaba significativamente con la estación, el tipo de hábitat y el aumento de la infestación por

ectoparásitos. Mientras que otros autores han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la probabilidad de infección por *Bartonella* en ratas de diferentes zonas (urbanas, rurales y silvestres) (Halliday et al., 2015; Moreno-Salas et al., 2019).

En el caso de *Rickettsia* no se identificó asociación específica, ni con factores individuales ni en combinación. Sin embargo, es crucial resaltar que se observó una diferencia significativa sólo en la prevalencia de pulgas, sin identificar asociaciones con otros elementos analizados.

Al considerar modelos desarrollados en otros estudios, algunos factores que podrían ser relevantes no son incluidos en nuestro estudio, como la presencia de viviendas con patios de tierra o material en concreto y sin saneamiento básico (Dzul-Rosado et al., 2021), así como urbanizaciones públicas que albergan un gran número de ratas infectadas (Griffiths et al., 2022). Sin embargo, en nuestro análisis, no se encontraron asociaciones significativas entre la diversidad, prevalencia y abundancia de parásitos y la presencia de bacterias.

La falta de asociación observada puede explicarse por la ausencia de diferencias significativas en los descriptores iniciales que evaluamos, como medidas de diversidad, abundancia y prevalencia. Sin embargo, es importante destacar que esta falta de asociación no fue consistente para todos los parásitos. Por ejemplo, en el caso de los piojos y las pulgas, se observaron diferencias significativas en algunos descriptores, como la prevalencia. Como se mencionó previamente, la falta de variaciones sustanciales en estos descriptores podría haber limitado nuestra capacidad para identificar relaciones significativas con la presencia de bacterias. Esto sugiere que, aunque analizamos medidas como la diversidad, la prevalencia y la abundancia de ectoparásitos, estas características no exhibieron diferencias significativas que pudieran explicar la presencia o ausencia de bacterias patógenas. En otras palabras, los factores considerados inicialmente no resultaron lo suficientemente distintivos como para establecer asociaciones claras con la presencia de bacterias patógenas en las poblaciones de ectoparásitos estudiadas. Esta falta de variabilidad en los descriptores iniciales podría haber contribuido a la dificultad para identificar relaciones significativas con la presencia de bacterias. Destacar este punto resalta la necesidad de considerar una gama más amplia de variables y factores en futuros estudios para una comprensión más completa de las interacciones entre ectoparásitos y bacterias patógenas en las poblaciones de *R. rattus*.

## Conclusión

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la asociación entre la abundancia, prevalencia y diversidad de ectoparásitos, con la prevalencia de bacterias potencialmente patógenas de los géneros *Rickettsia*, *Bartonella* y *Coxiella* en poblaciones de *R. rattus* en zonas con diferentes grados de intervención antrópica en Chile. Las especies de ácaros, garrapatas, piojos y pulgas más prevalentes en *R. rattus* fueron *Ornithonyssus* spp., *I. sigelos*, *P. spinulosa* y *L. segnis*, respectivamente. Los únicos ectoparásitos que variaron en prevalencia en determinadas épocas del año (específicamente durante el invierno y el verano) fueron los ácaros y los piojos.

El uso de tres regiones (*rpoB*, *gltA* e *ITS*) permitió identificar seis genotipos de *Bartonella* en ectoparásitos, entre los que destacan *B. tribocorum* y *B. coopersplainsensis*. El análisis de haplotipos en *Bartonella* resultó en diez haplotipos para *rpoB*, siete para *gltA* y tres para *ITS*. Los valores de diversidad haplotípica fueron altos, indicando una alta cantidad de haplotipos únicos y exclusivos con un tamaño muestral bajo en las poblaciones. Por otro lado, el análisis de *Rickettsia* reveló la presencia de dos haplotipos para *ompB*, mostrando una baja diversidad haplotípica, ya que solo se identificó *Rickettsia felis*.

Las prevalencias generales de *Bartonella* spp. y *Rickettsia* spp. no se diferenciaron con respecto al tipo de localidad y *Coxiella* no fue detectada en las muestras analizadas. Contrariamente a la hipótesis inicial de este estudio, las zonas rurales estaban menos habitadas por ectoparásitos y sus bacterias asociadas. La zona silvestre fue donde se presentó la mayor prevalencia de piojos y ácaros, además de la mayor ocurrencia de ectoparásitos infectados por *Bartonella*. Los ácaros y pulgas de las zonas rurales también alcanzaron altas prevalencias de *Bartonella* y, sorprendentemente, *Rickettsia* se encontró más en las zonas urbanas, con una frecuencia similar a la de las zonas silvestres. Aunque las diferencias no alcanzaron significancia estadística.

En resumen, este estudio revela resultados que difieren de la literatura existente, destacando una alta variabilidad genética y una prevalencia elevada de infecciones por *Bartonella* y *Rickettsia* en ectoparásitos. La evidencia respalda la noción de que tales condiciones pueden propiciar la aparición y reaparición de zoonosis. Este fenómeno se ha observado a lo largo de las grandes epidemias, destacando la capacidad de adaptación de los ectoparásitos entre diferentes hospedadores mamíferos, incluyendo animales domésticos y humanos. En conjunto, estos resultados enfatizan la importancia de abordar de manera proactiva la planificación del

crecimiento demográfico y la interacción humana con entornos silvestres para prevenir la propagación de enfermedades zoonóticas.

## **Anexos**

**Anexo 1.** Protocolos Aprobados por el Comité de Ética de la Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Concepción.



Universidad de Concepción

Concepción, mayo de 2013.

**CERTIFICADO**

El Comité de Ética de la Universidad de Concepción ha revisado el protocolo del Proyecto **FONDECYT INICIACIÓN EN INVESTIGACIÓN 2013**, titulado **“ENVIRONMENTAL DISTURBANCE IN THE TRANSITION ZONE OF CENTRAL SOUTH OF CHILE: WHAT CAN FLEAS-RODENT ASSEMBLAGES TELL US?”** postulado por la **DRA. LUCILA MORENO SALAS** en calidad de Investigadora Principal, docente del Departamento de Zoología de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas de la Universidad de Concepción y ha comprobado que cumple con las normas y procedimientos éticos establecidos nacional e internacionalmente para estudios que involucran el empleo de animales para experimentación.

La presente propuesta de investigación busca evaluar la presencia y la extensión de infestación de especies de pulgas (*Siphonaptera*) asociadas a 11 (once) especies de roedores, caracterizados en “Metodología”, provenientes de 09 (nueve) sitios de la Región del Biobío, Chile, los cuales se pretende mostrear entre febrero de 2014 y noviembre de 2016.

Por cada sitio propuesto para el estudio, rigurosamente definido en “Lugar de Aplicación”, se procederá a la captura de 30 (treinta) ejemplares de las especies indicadas mediante el empleo de trampas tipo Sherman emplazadas según protocolo entre las 18:00 y las 08:00 horas del día siguiente. Cada ejemplar capturado, será pesado y anestesiado, por mezcla ketamina:xilazina (1:1), en dosis de 0,01 a 0,04 ml, luego medido y sexado, para solo posteriormente proceder la búsqueda exhaustiva de pulgas, las cuales serán colectadas bajo metodología descrita por Krasnov et al. (2004). Estos roedores serán marcados por el método crotal con numeración única en el borde de la oreja e inmediatamente liberados en el mismo sitio donde fueron capturados.

Todo el proceso de manipulación de los roedores se contará con el respectivo permiso de la Autoridad Competente del Servicio Agrícola y Ganadero de Chile - SAG.

Las pulgas colectadas serán identificadas y posteriormente llevadas al Laboratorio de Microbiología Ambiental y Ecología Microbiana de responsabilidad del Dr. Víctor Campos, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción, con el



### Universidad de Concepción

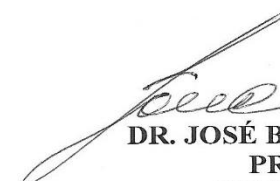
fin de realizar los análisis moleculares. Este procedimiento permitirá coleccionar los insectos objeto de estudio bajo manipulación por parte del personal debida y altamente calificado y seguirá las medidas de seguridad responsables, bajo la supervisión del investigador responsable (Médico Veterinario).


Se espera con el presente Proyecto encontrar una diversidad única de pulgas, debido a las limitaciones ambientales y a la alta diversidad de sus hábitats, un patrón zoogeográfico típico, incorporando nueva evidencia a los patrones zoogeográficos observados para esta zona en organismos de vida libre, diferencias entre las zonas alteradas y no alteradas con respecto a la diversidad y riqueza de especies, nuevos registros de asociación pulga-roedor y localidades, nuevos registros de microorganismos potencialmente patógenos para el ser humano y encontrar microorganismos que pueden ser propuestos como agentes de biocontrol.

El número de individuos a ensayar, se ajusta con estricto rigor al protocolo de las 3R's – Reemplazo, Reducción y Refinamiento, de Russell & Burch (1959), conforme se detalla en la Metodología.

Los residuos biológicos y químicos generados en el desarrollo del presente proyecto serán retirados y dispuestos por el Plan de Manejo de Sustancias y Residuos Peligrosos (MATPEL) de la Universidad de Concepción, todo de acuerdo a las indicaciones del Manual de Normas de Bioseguridad de CONICYT de 2008 y las propias emanadas por la Unidad.

Considerando que el Proyecto presentado cumple con las mencionadas Normas de Bioseguridad y no muestra elementos que puedan transgredir las normas éticas y los principios bioéticos rectores de nuestra Institución Universitaria y las adoptadas por la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica – CONICYT, este Comité resuelve aprobarlo, confiriendo este Certificado.

  
**DR. JOSÉ BECERRA ALLENDE**  
**PRESIDENTE**  
**COMITÉ DE ÉTICA**  
**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION**



## Referencias

- Abramowicz, K. F., Rood, M. P., Krueger, L., & Eremeeva, M. E. (2011). Urban focus of *Rickettsia typhi* and *Rickettsia felis* in Los Angeles, California. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 11(7), 979-984.
- Acuña-Soto, R., Calderón-Romero, L., Romero-López, D., & Bravo-Lindoro, A. (2000). Murine typhus in Mexico City. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(1).
- Alarcón, M. E. (2003). Sifonapterofauna de tres especies de roedores de Concepción, VIII Región-Chile. *Gayana (Concepción)*, 67(1), 16-24.
- Angelakis, E., & Raoult, D. (2010). Q Fever. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 297-309.
- Baak-Baak, C. M., Cigarroa-Toledo, N., Torres-Chablé, O. M., Arana-Guardía, R., Puerto, F. I., Machain-Williams, C., & García-Rejón, J. E. (2016). New records of ectoparasites *Echinolaelaps echidninus* and *Polyplax spinulosa* on rodents with serological evidence of flavivirus infections at Mérida, Yucatán, México. *Southwestern Entomologist*, 41(1), 75-85.
- Barriga, O. O., & Donckaster, R. (1965). Human Dermatitis by *Liponyssus bacoti*. First Cases Reported in Chile. *Boletín Chileno de Parasitología*, 20(3), 76-8.
- Barros-Battesti, D. M., Ramirez, D. G., Landulfo, G. A., Faccini, J. L. H., Dantas-Torres, F., Labruna, M. B., ... & Onofrio, V. C. (2013). Immature argasid ticks: diagnosis and keys for Neotropical region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22, 443-456.
- Bitam, I., Rolain, J. M., Nicolas, V., Tsai, Y. L., Parola, P., Gundi, V. A., ... & Raoult, D. (2012). A multi-gene analysis of diversity of *Bartonella* detected in fleas from Algeria. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 35(1), 71-76.
- Blasdell, K. R., Morand, S., Laurance, S. G. W., Doggett, S. L., Hahs, A., Trinh, K., . . . Firth, C. (2022). Rats and the city: Implications of urbanization on zoonotic disease risk in Southeast Asia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(39), e2112341119.

- Blasdell, K. R., Morand, S., Perera, D., & Firth, C. (2019a). Association of rodent-borne *Leptospira* spp. with urban environments in Malaysian Borneo. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(2), e0007141.
- Blasdell, K. R., Perera, D., & Firth, C. (2019b). High prevalence of rodent-borne *Bartonella* spp. in urbanizing environments in Sarawak, Malaysian Borneo. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 100(3), 506.
- Bordes, F., Blasdell, K., & Morand, S. (2015). Transmission ecology of rodent-borne diseases: new frontiers. *Integrative zoology*, 10(5), 424-435.
- Bradley, C. A., & Altizer, S. (2007). Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 95-102.
- Brenner, A. E., Muñoz-Leal, S., Sachan, M., Labruna, M. B., & Raghavan, R. (2021). *Coxiella burnetii* and related tick endosymbionts evolved from pathogenic ancestors. *Genome biology and evolution*, 13(7), evab108.
- Brennan, J. M., & Goff, M. L. (1977). Keys to the genera of chiggers of the western hemisphere (Acarina: Trombiculidae). *The Journal of Parasitology*, 554-566.
- Brook, C. E., Bai, Y., Emily, O. Y., Ranaivoson, H. C., Shin, H., Dobson, A. P., ... & Dittmar, K. (2017). Elucidating transmission dynamics and host-parasite-vector relationships for rodent-borne *Bartonella* spp. in Madagascar. *Epidemics*, 20, 56-66.
- Brunner, J. L., & Ostfeld, R. S. (2008). Multiple causes of variable tick burdens on small-mammal hosts. *Ecology*, 89(8), 2259-2272.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 575-583.
- Castro, D. D. C. (1982). Sobre una nueva especie del género *Eulinognathus* Cummings de *Ctenomys Brasiliensis* Blainville (Anoplura: Poliplacidae). *Revista del Museo de La Plata*, 13(131), 25-28.
- Cevidane, A., Di Cataldo, S., Vera, F., Lillo, P., & Millán, J. (2018). Molecular detection of vector-borne pathogens in rural dogs and associated *Ctenocephalides felis* fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Easter Island (Chile). *Journal of medical entomology*, 55(6), 1659-1663.

- Chakma, S., Picard, J., Duffy, R., Constantinoiu, C., & Gummow, B. (2017). A Survey of Zoonotic Pathogens Carried by Non-Indigenous Rodents at the Interface of the Wet Tropics of North Queensland, Australia. *Transboundary and emerging diseases*, 64(1), 185-193.
- Chitanga, S., Chibesa, K., Sichibalo, K., Mubemba, B., Nalubamba, K. S., Muleya, W., ... & Simulundu, E. (2021). Molecular detection and characterization of *Rickettsia* species in Ixodid ticks collected from cattle in Southern Zambia. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 684487.
- Colborn, J. M., Kosoy, M. Y., Motin, V. L., Telepnev, M. V., Valbuena, G., Myint, K. S., ... & Peruski, L. (2010). Improved detection of *Bartonella* DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the NADH dehydrogenase gamma subunit (nuoG). *Journal of clinical microbiology*, 48(12), 4630-4633.
- Cutler, S., Abdissa, A., Adamu, H., Tolosa, T., Gashaw, A. (2012). *Bartonella quintana* in Ethiopian lice. *Comparative Immunology, Microbiology, and Infectious Diseases*, 35(1), 17-21.
- D'Cruz, S., Perumalla, S. K., Yuvaraj, J., & Prakash, J. A. J. (2022). Geography and prevalence of rickettsial infections in Northern Tamil Nadu, India: a cross-sectional study. *Scientific Reports*, 12(1), 20798.
- De Bruin, A., De Groot, A., De Heer, L., Bok, J., Wielinga, P. R., Hamans, M., ... & Janse, I. (2011). Detection of *Coxiella burnetii* in complex matrices by using multiplex quantitative PCR during a major Q fever outbreak in The Netherlands. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(18), 6516-6523.
- de Cock, M. P., de Vries, A., Fonville, M., Esser, H. J., Mehl, C., Ulrich, R. G., . . . Maas, M. (2023). Increased rat-borne zoonotic disease hazard in greener urban areas. *Science of the Total Environment*, 896, 165069.
- de Sousa, K. C. M., Herrera, H. M., Rocha, F. L., Costa, F. B., Martins, T. F., Labruna, M. B., . . . André, M. R. (2018a). *Rickettsia* spp. among wild mammals and their respective ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 9(1), 10-17.

de Sousa, K. C. M., do Amaral, R. B., Herrera, H. M., Santos, F. M., Macedo, G. C., de Andrade Pinto, P. C. E., . . . André, M. R. (2018b). Genetic Diversity of *Bartonella* spp. in Wild Mammals and Ectoparasites in Brazilian Pantanal. *Microbial Ecology*, 76(2), 544-554.

Diarra, A. Z., Kone, A. K., Doumbo Niare, S., Laroche, M., Diatta, G., Atteynine, S. A., . . . Parola, P. (2020). Molecular Detection of Microorganisms Associated with Small Mammals and Their Ectoparasites in Mali. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(6), 2542-2551.

Duma, R. J., Sonenshine, D. E., Bozeman, F. M., Veazey, J. M. Jr, Elisberg, B. L., Chadwick, D. P., . . . & MacCormack, J. N. (1981) Epidemic typhus in the United States associated with flying squirrels. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 245(22), 2318-23

Duma, R. J., Sonenshine, D. E., Bozeman, F. M., Veazey, J. M., Elisberg, B. L., Chadwick, D. P., . . . MacCormack, J. N. (1981). Epidemic typhus in the United States associated with flying squirrels. *Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 245(22), 2318-2323.

Durden, L. A., & Page, B. F. (1991). Ectoparasites of commensal rodents in Sulawesi Utara, Indonesia, with notes on species of medical importance. *Medical and Veterinary Entomology*, 5(1), 1-7.

Duron, O. (2015). The IS1111 insertion sequence used for detection of *Coxiella burnetii* is widespread in Coxiella-like endosymbionts of ticks. *FEMS Microbiology Letters*. 362(17), fnv132.

Dzul-Rosado, K. R., Reyes-Novelo, E., Lugo-Caballero, C., Cuxim-Koyoc, A. D., Collí-Padrón, F., Tello-Martín, R., . . . Ruiz-Piña, H. A. (2021). Urban ecology of hosts and vectors of *Rickettsia* in a rickettsiosis-endemic city of the Yucatan peninsula, Mexico. *Acta Tropica*, 216, 105832.

Dzul-Rosado, K., González-Martínez, P., Peniche-Lara, G., Zavala-Velázquez, J., & Zavala-Castro, J. (2013). Murine typhus in humans, Yucatan, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 19(6), 1021-1022.

Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5), 1792-1797.

- Ehlers, J., Krüger, A., Rakotondranary, S. J., Ratovonamana, R. Y., Poppert, S., Ganzhorn, J. U., & Tappe, D. (2020). Molecular detection of *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., *Bartonella* spp. and *Yersinia pestis* in ectoparasites of endemic and domestic animals in southwest Madagascar. *Acta Tropica*, 205, 105339.
- Eslami, A., Yousefi, A., & Dowling, A. P. (2018). Prevalence of ectoparasites in black rat (*Rattus rattus*) from Mangrove forests of Qeshm Island, Iran. *Comparative Clinical Pathology*, 27, 1583-1586.
- Favacho, A. R., Andrade, M. N., de Oliveira, R. C., Bonvicino, C. R., D'Andrea, P. S., & de Lemos, E. R. (2015). Zoonotic *Bartonella* species in wild rodents in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Microbes and Infection*, 17(11-12), 889-892.
- Furman, D. P. (1972). Mites of the family Laelapidae in Venezuela (Acarina: Laelapidae). *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 17(3), 1.
- Gillespie, J. J., Ammerman, N. C., Beier-Sexton, M., Sobral, B. S., & Azad, A. F. (2009). Louse-and flea-borne rickettsioses: biological and genomic analyses. *Veterinary research*, 40(2).
- Gonçalves, L. R., Favacho, A. R., Roque, A. L., Mendes, N. S., Fidelis Junior, O. L., Benevenuto, J. L., . . . André, M. R. (2016). Association of *Bartonella* Species with Wild and Synanthropic Rodents in Different Brazilian Biomes. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(24), 7154-7164.
- González-Acuña, D., & Guglielmone, A. A. (2005). Ticks (acari: ixodoidea: argasidae, ixodidae) of Chile. *Experimental & applied acarology*, 35, 147-163.
- González-Acuña, D., Venzal, J. M., & Guglielmone, A. A. (2004). Nuevos hospedadores y localidades de *Ixodes sigelos* e *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) en Chile. *Gayana (Concepción)*, 68(1), 108-111.
- Griffiths, J., Yeo, H. L., Yap, G., Mailepessov, D., Johansson, P., Low, H. T., . . . Ng, L. C. (2022). Survey of rodent-borne pathogens in Singapore reveals the circulation of *Leptospira* spp., Seoul hantavirus, and *Rickettsia typhi*. *Scientific Reports*, 12(1), 2692.

Guglielmone, A. A., Estrada-Peña, A., Keirans, J., & Robbins, R. G. (2004). Las garrapatas (Acari: Ixodida) de la región zoogeográfica neotropical. *Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*, 142.

Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E. M., & Troedsson, C. (2014). Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers. *PloS one*, 9(2), e87624.

Halliday, J. E., Knobel, D. L., Agwanda, B., Bai, Y., Breiman, R. F., Cleaveland, S., . . . Kosoy, M. (2015). Prevalence and diversity of small mammal-associated *Bartonella* species in rural and urban Kenya. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(3), e0003608.

Herbreteau, V., Jittapalpong, S., Rerkamnuaychoke, W., Chaval, Y., Cosson, J. F., & Morand, S. (2011). *Protocols for field and laboratory rodent studies* (pp. 5-p). Kasetsart University.

Himsworth, C. G., Parsons, K. L., Jardine, C., & Patrick, D. M. (2013). Rats, cities, people, and pathogens: a systematic review and narrative synthesis of literature regarding the ecology of rat-associated zoonoses in urban centers. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(6), 349-359.

Hopkins, G. H. E. (1956). An Illustrated Catalogue of the Rothschild Collection of fleas (Siphonaptera) in the British Museum (Natural History). Vol. II. Coptosyllidae, Vermipsyllidae, Stephanocircidae, Ischnopsyllidae, Hypsophthalmidae and Xiphopsyllidae. *British Museum (Natural History), London*.

Hopkins, G. H. E., British Museum (Natural History), & Rothschild, M. (1966). *An Illustrated Catalogue of the Rothschild Collection of Fleas (Siphonaptera) in the British Museum (Natural History) with Keys and Short Descriptions for the Identification of Families, Genera, Species and Subspecies of the Order: Hystrichopsyllidae (Ctenophthalminae, Dinopsyllinae, Doratopsyllinae and Listropsyllinae)*. British Museum (Natural History).

Hopkins, G. H., & Rothschild, M. (1962). *An Illustrated Catalogue of the Rothschild Collection of Fleas (Siphonaptera) in the British Museum (Natural History): Hystrichopsyllidae (Acedestiinae, Anomiopsyllinae, Hystrichopsyllinae, Neopsyllinae, Rhadinopsyllinae and Stenoponiinae)/by GHE Hopkins & Miriam Rothschild*. Trustees of the British Museum (Natural History).

- Hsieh, J. W., Tung, K. C., Chen, W. C., Lin, J. W., Chien, L. J., Hsu, Y. M., . . . Chang, C. C. (2010). Epidemiology of *Bartonella* infection in rodents and shrews in Taiwan. *Zoonoses Public Health*, 57(6), 439-446.
- Jofré, A., Aymerich, T., Grèbol, N., & Garriga, M. (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *LWT-Food Science and Technology*, 42(5), 924-928.
- Kamani, J., Baneth, G., Gutiérrez, R., Nachum-Biala, Y., Mumcuoglu, K. Y., & Harrus, S. (2018). *Coxiella burnetii* and *Rickettsia conorii*: Two zoonotic pathogens in peridomestic rodents and their ectoparasites in Nigeria. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 9(1), 86-92.
- Kaminskienė, E., Paulauskas, A., Balčiauskas, L., Radzijeuskaja, J. *Bartonella* spp. detection in laelapid (Mesostigmata: Laelapidae) mites collected from small rodents in Lithuania. (2022). *Journal of Vector Ecology*, 47(2), 195-201.
- Keirans, J. E., & Clifford, C. M. (1978). The genus *Ixodes* in the United States: a scanning electron microscope study and key to the adults. *Journal of Medical Entomology*, 15(suppl\_2), 1-38.
- Klain, V., Mentz, M. B., Bustamante-Manrique, S., & Bicca-Marques, J. C. (2023). Landscape structure has a weak influence on the parasite richness of an arboreal folivorous–frugivorous primate in anthropogenic landscapes. *Landscape Ecology*, 38(5), 1237-1247.
- Klangthong, K., Promsthaporn, S., Leepitakrat, S., Schuster, A. L., McCardle, P. W., Kosoy, M., & Takhampunya, R. (2015). The Distribution and Diversity of *Bartonella* Species in Rodents and Their Ectoparasites across Thailand. *PLoS One*, 10(10), e0140856.
- Kosoy, M., & Bai, Y. (2019). *Bartonella* bacteria in urban rats: a movement from the jungles of Southeast Asia to metropolises around the globe. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 88.
- Krasnov, B. R. (2008). *Functional and Evolutionary Ecology of Fleas: a model for ecological parasitology*. Cambridge University Press.
- Krasnov, Boris R., et al. (2022). Temporal variation of metacommunity structure in arthropod ectoparasites harboured by small mammals: the effects of scale and climatic fluctuations. *Parasitology Research*, 121.2, 537-549.

- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kuo, C. C., Lee, P. L., & Wang, H. C. (2020). Molecular detection of *Rickettsia* species and host associations of Laelaps mites (Acari: Laelapidae) in Taiwan. *Experimental and Applied Acarology*, 81(4), 547-559.
- Labruna, M. B. (2007). *Rickettsia parkeri*. *Emerging Infectious Diseases*, 13(7), 1111.
- Labruna, M.B., Whitworth, T., Horta, M.C., Bouyer, D.H., McBride, J.W., Pinter, A., Popov, V., Gennari, S.M., & Walker, D.H. (2004). *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clinical Microbiology Reviews*. 42(1):90-8.
- Labruna, M. B., Horta, M. C., Aguiar, D. M., Cavalcante, G. T., Pinter, A., Gennari, S. M., & Camargo, L. M. A. (2007). Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro municipality, western Amazon, Brazil. *Vector-borne and zoonotic diseases*, 7(2), 249-255.
- Labruna, M. B., Mattar, S., Nava, S., Bermudez, S., Venzal, J. M., Dolz, G., ... & Zavala-Castro, J. (2011). Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Revista MVZ Córdoba*, 16(2), 2435-2457.
- Lamas, C., Curi, A., Bóia, M. N., & Lemos, E. R. S. (2008). Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil—a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103, 221-235.
- Lareschi et al., (2022). Prevalencia y diversidad genética de *Bartonella spp.* en pulgas de mamíferos silvestres en el noreste de Argentina. Congreso; IX Congreso Argentino De Parasitología; 2022, Salta, Argentina.
- Laudisoit, A., Falay, D., Amundala, N., Akaibe, D., de Bellocq, J. G., Van Houtte, N., . . . Socolovschi, C. (2014). High prevalence of *Rickettsia typhi* and *Bartonella* species in rats and fleas, Kisangani, Democratic Republic of the Congo. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(3), 463-468.

- Liu, Q., Sun, J., Lu, L., Fu, G., Ding, G., Song, X., ... & Chai, C. (2010). Detection of *Bartonella* species in small mammals from Zhejiang Province, China. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(1), 179-185.
- Liu, G., Wang, H., Cheng, Y., Zheng, B., & Lu, Z. (2016). The impact of rural out-migration on arable land use intensity: Evidence from mountain areas in Guangdong, China. *Land Use Policy*, 59, 569-579.
- Loftis, A. D., Reeves, W. K., Szumlas, D. E., Abbassy, M. M., Helmy, I. M., Moriarity, J. R., Dasch, G. A. (2006) Surveillance of Egyptian fleas for agents of public health significance: *Anaplasma*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Rickettsia*, and *Yersinia pestis*. *Am American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 75(1), 41-8.
- Lopes, M. G., Muñoz-Leal, S., de Lima, J. T. R., Fournier, G. F. D. S. R., Igor da Cunha, L. A., Martins, T. F., ... & Labruna, M. B. (2018). Ticks, rickettsial and erlichial infection in small mammals from Atlantic Forest remnants in northeastern Brazil. *International Journal for Parasitology*, 7(3), 380-385.
- López Berrizbeitia, M. F., Sánchez, J., Díaz, M. M., Barquez, R. M., & Lareschi, M. (2015). Redescription of *Neotyphloceras crassispina* hemisus Jordan (Siphonaptera: Ctenophthalmidae: Neotyphloceratini). *The Journal of Parasitology*, 101(2), 145-149.
- López-Pérez, A. M., Chaves, A., Sánchez-Montes, S., Foley, P., Uhart, M., Barrón-Rodríguez, J., Foley, J. (2022). Diversity of rickettsiae in domestic, synanthropic, and sylvatic mammals and their ectoparasites in a spotted fever-epidemic region at the western US-Mexico border. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(2), 609-622.
- Medina-Pinto, R.A., Torres-Castro, M.A., Medina-Pinto, R.A., Bolio-González, M.E., Rodríguez-Vivas, R.I. (2019). Natural cysticercus fasciolaris infection in rodents from a rural area in Yucatan, Mexico. *Veterinaria México*, 6, 1–10.
- Melis, M. E. (2023). *Eco-epidemiología de los ectoparásitos de roedores silvestres (Cricetidae) y sinantrópicos (Muridae) en la provincia de Buenos Aires* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).

Modi, A. K., & Vankara, A. P. (2021). Prevalence and spatial distribution of the ectoparasites on the gills of *Mystus vittatus* from River Penna flowing through YSR District, Andhra Pradesh, India. *Journal of Parasitic Diseases*, 45(1), 43-49.

Monge, J. (2019). *Roedores Urbanos*. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica, Costa Rica. 40 p.

Mooser, H., Castaneda, M. R., & Zinsser, H. (1931). The transmission of the virus of Mexican typhus from rat to rat by *Polyplax spinulosus*. *The Journal of Experimental Medicine*, 54(4), 567-575.

Moreno Salas, L., Espinoza-Carniglia, M., Lizama Schmeisser, N., Torres, L. G., Silva-de la Fuente, M. C., Lareschi, M., & González-Acuña, D. (2019). Fleas of black rats (*Rattus rattus*) as reservoir host of *Bartonella* spp. in Chile. *Peer J*, 7, e7371.

Moreno, C. E. (2001). M & T. Manuales y Tesis SEA. Métodos para medir la biodiversidad. Zaragoza, España. Obtenido de <http://entomologia.rediris.es/sea/manytes/metodos.pdf>.

Moreno-Salas, L., Espinoza-Carniglia, M., Lizama-Schmeisser, N., Torres-Fuentes, L. G., Silva-de La Fuente, M. C., Lareschi, M., & González-Acuña, D. (2020). Molecular detection of *Rickettsia* in fleas from micromammals in Chile. *Parasites & Vectors*, 13, 1-21.

Muhammad, K. A., Gadzama, U. N., & Onyiche, T. E. (2023). Distribution and Prevalence of *Coxiella burnetii* in Animals, Humans, and Ticks in Nigeria: A Systematic Review. *Infectious Disease Reports*, 15(5), 576-588.

Müller, A., Gutiérrez, R., Seguel, M., Monti, G., Oth, C., Bittencourt, P., ... & Harrus, S. (2020). Molecular survey of *Bartonella* spp. in rodents and fleas from Chile. *Acta Tropica*, 212, 105672.

Müller, A., Walker, R., Bittencourt, P., Machado, R. Z., Benevenuto, J. L., Do Amaral, R. B., ... & André, M. R. (2017). Prevalence, hematological findings and genetic diversity of *Bartonella* spp. in domestic cats from Valdivia, Southern Chile. *Parasitology*, 144(6), 773-782.

- Nava, S., Venzal, J. M., Acuña, D. G., Martins, T. F., & Guglielmone, A. A. (2017). *Ticks of the Southern Cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance*. Academic Press.
- Núñez, M. A., Contreras, K., Depix, M. S., Geoffroy, E., Villagra, N., Mellado, S., & Salinas, A. M. (2017). Prevalencia de *Bartonella henselae* en donantes de sangre y riesgo de transmisión sanguínea en Chile. *Revista chilena de infectología*, 34(6), 539-543.
- Obiegala, A., Oltersdorf, C., Silaghi, C., Kiefer, D., Kiefer, M., Woll, D., & Pfeffer, M. (2016). *Rickettsia* spp. in small mammals and their parasitizing ectoparasites from Saxony, Germany. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 5, 19-24.
- Palacios-Cedeño, E. R., Castillo-Hidalgo, E. P., & Orlando-Narváez, S. A. (2023). Detección de *Bartonella* spp en gatos con hábitos callejeros de la ciudad de Guayaquil mediante (PCR). *MQRInvestigar*, 7(2), 805-815.
- Panthawong, A., Grieco, J. P., Ngoen-Klan, R., Chao, C. C., & Chareonviriyaphap, T. (2020b). Detection of *Anaplasma* spp. and *Bartonella* spp. from wild-caught rodents and their ectoparasites in Nakhon Ratchasima Province, Thailand. *Journal of Vector Ecology*, 45(2), 241-253.
- Paradis, E. (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach. *Bioinformatics*, 26(3), 419-420.
- Paramasvaran, S., Sani, RA, Hassan, L., Krishnasamy, M., Jeffery, J., Oothuman, P., ... y Santhana, RL (2009). Fauna de ectoparásitos de roedores y musarañas de cuatro hábitats en Kuala Lumpur y los estados de Selangor y Negeri Sembilan, Malasia, y su importancia para la salud pública. *Tropical Biomedicine*, 26 (3), 303-311.
- Parola, P., Paddock, C. D., & Raoult, D. (2005). Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clinical microbiology reviews*, 18(4), 719-756.
- Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. M., Park, E. C., Burke, D. S., Calisher, C. H., ... & Daszak, P. (2008). Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(3), 457-470.

Peñañiel, G. D. (2010). Estudio ecoepidemiológico de zoonosis bacterianas, parasitarias y víricas en animales silvestres y de producción de la Provincia de Burgos (Doctoral dissertation, Universidad de Alcalá).

Poo-Muñoz, D. A., Elizondo-Patrone, C., Escobar, L. E., Astorga, F., Bermúdez, S. E., Martínez-Valdebenito, C., ... & Medina-Vogel, G. (2016). Fleas and ticks in carnivores from a domestic–wildlife interface: implications for public health and wildlife. *Journal of medical entomology*, 53(6), 1433-1443.

Portillo, A., Santibáñez, S., García-Álvarez, L., Palomar, A. M., & Oteo, J. A. (2015). Rickettsioses in Europe. *Microbes and Infection*, 17(11-12), 834-838.

Pramestuti, N., Umniyati, S. R., Mulyaningsih, B., Widiastuti, D., Raharjo, J. (2018). Evidence of *Rickettsia typhi* in Rat fleas of Various Habitat and the Potential Transmission of Murine Typhus in Banjarnegara, Central Java, Indonesia. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 9(8), 1548-1553.

Prusinski, M. A., White, J. L., Wong, S. J., Conlon, M. A., Egan C, Kelly-Cirino, C. D., . . . & White, D. J. (2014). Sylvatic typhus associated with flying squirrels (*Glaucomys volans*) in New York State, United States. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 14(4), 240-4.

Psaroulaki, A., Antoniou, M., Papaeustathiou, A., Toumazos, P., Loukaides, F., & Tselentis, Y. (2006). First detection of *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis felis* fleas parasitizing rats in Cyprus. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74(1), 120-122.

Quintero, J. C., Londoño, A. F., Díaz, F. J., Agudelo-Flórez, P., Arboleda, M., & Rodas, J. D. (2013). Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica*, 33(1), 38-51.

R Core Team (2022) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

Radovsky, F. J. (1994). The evolution of parasitism and the distribution of some dermanysoid mites (Mesostigmata) on vertebrate hosts. In *Mites: ecological and evolutionary analyses of life-history patterns* (pp. 186-217). Boston, MA: Springer US.

- Radovsky, F. J. (2010). *Revision of genera of the parasitic mite family Macronyssidae:(Mesostigmata Dermanyssoidea) of the world*. Indira Publishing House.
- Radzijeuskaja, J., Kaminskienė, E., Lipatova, I., Mardosaitė-Busaitienė, D., Balčiauskas, L., Stanko, M., & Paulauskas, A. (2018). Prevalence and diversity of *Rickettsia* species in ectoparasites collected from small rodents in Lithuania. *Parasit Vectors*, 11(1), 375.
- Rakotonanahary, R. J., Harrison, A., Maina, A. N., Jiang, J., Richards, A. L., Rajerison, M., & Telfer, S. (2017). Molecular and serological evidence of flea-associated typhus group and spotted fever group rickettsial infections in Madagascar. *Parasites & vectors*, 10, 1-8.
- Reeves, W. K., Szumlas, D. E., Moriarity, J. R., Loftis, A. D., Abbassy, M. M., Helmy, I. M., & Dasch, G. A. (2006). Louse-borne bacterial pathogens in lice (Phthiraptera) of rodents and cattle from Egypt. *Journal of Parasitology*, 92(2), 313-318.
- Reiczigel, J., Zakariás, I., & Rózsa, L. (2005). A bootstrap test of stochastic equality of two populations. *The American Statistician*, 59(2), 156-161.
- Reusken, C., van der Plaats, R., Opsteegh, M., de Bruin, A., & Swart, A. (2011). *Coxiella burnetii* (Q fever) in *Rattus norvegicus* and *Rattus rattus* at livestock farms and urban locations in the Netherlands; could *Rattus* spp. represent reservoirs for (re)introduction? *Preventive Veterinary Medicine*, 101(1-2), 124-130.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular biology and evolution*, 34(12), 3299-3302.
- Rozental, T., Ferreira, M. S., Guterres, A., Mares-Guia, M. A., Teixeira, B. R., Gonçalves, J., de Lemos, E. R. (2017). Zoonotic pathogens in Atlantic Forest wild rodents in Brazil: Bartonella and Coxiella infections. *Acta Tropica*, 168, 64-73.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., & Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of parasitology*, 86(2), 228-232.
- Sánchez, J., & Lareschi, M. (2014). New records of fleas (Siphonaptera: Ctenophthalmidae: Rhopalopsyllidae and Stephanocircidae) from Argentinean Patagonia, with remarks on the morphology of *Agastopsylla boxi* and *Tiarapsylla argentina*. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(2), 383-390.

Sánchez, J., Amor, V., Bazan-Leon, E. A., Vasquez, R. A., & Lareschi, M. (2012). Redescription of *Neotyphloceras chilensis* Jordan, new status (Siphonaptera: Ctenophthalmidae: Neotyphloceratini). *Zootaxa*, 3259(1), 51-57.

Selmi, R., Belkahia, H., Dhibi, M., Abdelaali, H., Lahmar, S., Ben Said, M., & Messadi, L. (2021). Zoonotic vector-borne bacteria in wild rodents and associated ectoparasites from Tunisia. *Infection, Genetics and Evolution*, 95, 105039.

Sepúlveda-García, P., Rubio, A. V., Salgado, R., Riquelme, M., Bonacic, C., Canales, N., & Müller, A. (2023). Molecular detection and characterization of *Bartonella* spp. in rodents from central and southern Chile, with emphasis on introduced rats (*Rattus* spp.). *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 100, 102026.

Silva De la Fuente, M. C. (2019). El complejo *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Mesostigmata) de roedores de Chile diversidad genética, variaciones morfológicas y patógenos asociados.

Špitalská, E., Minichová, L., Hamšíková, Z., Stanko, M., & Kazimírová, M. (2022). *Bartonella*, *Rickettsia*, *Babesia*, and *Hepatozoon* Species in Fleas (Siphonaptera) Infesting Small Mammals of Slovakia (Central Europe). *Pathogens*, 11(8).

Stenos, J., Graves, S. R., & Unsworth, N. B. (2005). A highly sensitive and specific real-time PCR assay for the detection of spotted fever and typhus group Rickettsiae. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 73(6), 1083-1085.

Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356(1411), 983-989.

Theonest, N. O., Carter, R. W., Amani, N., Doherty, S. L., Hugho, E., Keyyu, J. D., . . . Halliday, J. E. B. (2019). Molecular detection and genetic characterization of *Bartonella* species from rodents and their associated ectoparasites from northern Tanzania. *PLoS One*, 14(10), e0223667.

Thompson, G. B. (1938). A census of the ectoparasites of some Ceylon rats. *Journal of Animal Ecology*, 7(1), 71-73.

Torres Mejía, A. M. (2006). Riqueza y prevalencia de ectoparásitos de mamíferos silvestres incautados, en el departamento del Quindío.

Torres-Castro, M., Martínez-Ortiz, D., Panti-May, A., Koyoc-Cardena, E., López-Ávila, K., Dzul-Rosado, K., ... & Manrique-Saide, P. (2018). *Rickettsia typhi* en roedores de una comunidad con antecedentes de tifo murino, de Yucatán, México. *Revista MVZ Córdoba*, 6974-6980.

Tsai, Y. L., Chuang, S. T., Chang, C. C., Kass, P. H., & Chomel, B. B. (2010). *Bartonella* species in small mammals and their ectoparasites in Taiwan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(4), 917-923.

Yao, X. Y., Liu, H., Sun, J., Zhang, Y. Q., Lv, Z. H., Zhang, X. L., & Shao, J. W. (2022). Epidemiology and Genetic Diversity of *Bartonella* communities In rodents in Southern China. *Frontiers in Microbiology*, 13, 942587.